

Entwicklung metallorganischer Verbindungen für die Verwendung in der Krebstherapie

Dissertation

zur Erlangung des
Doktorgrades der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

dem

Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

M. Sc. Kathrin Marga Wähler

aus

Marburg/Lahn

Marburg/Lahn, 2014

Die vorliegende Dissertation entstand in der Zeit von Februar 2011 bis Januar 2014 am Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg in der Arbeitsgruppe und unter der Betreuung von Herrn Prof. Dr. Eric Meggers.

Vom Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg (Hochschulkennz. 1180) als Dissertation am 15.01.14 angenommen.

Erstgutachter: Prof. Dr. Eric Meggers

Zweitgutachter: Prof. Dr. Armin Geyer

Tag der mündlichen Prüfung: 28.02.14

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Eric Meggers danke ich für die Möglichkeit, sowohl meine Master- als auch meine Doktorarbeit unter seiner Betreuung in den letzten drei Jahren anfertigen zu dürfen. Unter exzellenten Bedingungen hatte ich die Gelegenheit an sehr interessanten Projekten zu arbeiten. Prof. Meggers hatte dabei immer ein offenes Ohr und bot Hilfestellungen bei verschiedenen chemischen Problemen an.

Herrn Prof. Dr. Armin Geyer möchte ich herzlich für die Bereitschaft zur Übernahme des Zweitgutachtens dieser Arbeit danken.

Ein weiterer großer Dank geht an die Service-Abteilungen der Philipps-Universität Marburg. Den Mitarbeitern der NMR-Abteilung, insbesondere Herrn Klaus Pützer, Herrn Gerd Häde und Frau Cornelia Mischke, danke ich für die Messung meiner Proben. Der Massenspektrometrie-Abteilung um Dr. Uwe Linne danke ich für Aufnahme meiner Massenspektren und für die Hilfsbereitschaft bei jeder Frage. Außerdem möchte ich mich bei der Röntgenstruktur-Abteilung mit Dr. Klaus Harms, Michael Marsch und Radostan Riedel für die Messung meiner Proben und die Lösung der Kristallstrukturen bedanken.

Ein großes Dankeschön geht an Anja Ludewig, ohne die diese Doktorarbeit gar nicht zustande gekommen wäre. Auch wenn das Thema die ein oder andere Schwierigkeit bereithielt und wir so manchen Rückschlag hinnehmen mussten, konnten wir durch gute Zusammenarbeit und verschiedenste Diskussionen doch viele Erfolge verbuchen. Diese Zeit hat auf jeden Fall viel Spaß gemacht. Aber auch viele außeruniversitäre Erlebnisse werden mir in Erinnerung bleiben. Ich hoffe, dass hier noch einige hinzukommen werden.

Des Weiteren möchte ich mich bei Katja Kräling bedanken, ohne die der Arbeitskreis seine gute Fee verloren hat. Sie hat nicht nur für jedes Problem eine Lösung gewusst, auch konnte man mit ihr das ein oder andere Gespräch führen, Rätsel lösen oder Cachen (irgendwann klettern wir zusammen) gehen.

Ein besonderer Dank geht außerdem an Jens Henker, Melanie Helms, Manuel Streib, Elisabeth Martin, Marianne Kraack, Sandra Dieckmann, Nathalie Nett und Cornelia Ritter für die nette Arbeitsatmosphäre. Die gemeinsamen Kaffeepausen, Skiurlaube, Brauereibesichtigungen, die Konferenz in Grenoble, die Exkursion nach Berlin und viele andere gemeinsame Veranstaltungen werden immer in meiner Erinnerung bleiben und haben meine Zeit hier zu etwas Besonderem gemacht.

Zusätzlich danke ich allen jetzigen und bisherigen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Meggers für das sehr nette Arbeitsumfeld.

Für das schnelle und gründliche Korrekturlesen danke ich Melanie Helms, Nathalie Nett, Jens Henker, Cornelia Ritter, Patrick Szabo, Elisabeth Martin, Manuel Streib und Rajathees Rajaratnam.

Bei Frau Ina Pinnschmidt und Frau Andrea Tschirch möchte ich mich für die Hilfe bei sämtlichen organisatorischen Dingen bedanken.

Meinen Vertiefungs- und Bachelorstudenten Lea Albert, Laura-Jane Behl, Jillian Jespersen, Nathalie Nett, Patrick Szabo und Timo Völker danke ich für die Mitarbeit an meinem Forschungsthema.

Unseren Kollaborationspartnern Raimo Hartmann und Prof. Dr. Wolfgang Parak des Fachbereiches Physik der Philipps-Universität Marburg sowie Dr. Holger Steuber danke ich für die sehr gute Zusammenarbeit.

Ich danke meinem Freund Michael Gellert für die Unterstützung während meiner Doktorarbeit. Er hat immer die richtigen Worte gefunden, um mich wieder aufzubauen, wenn es mal nicht so lief und für die vielen Stunden außerhalb des Uni-Alltags.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, ohne deren Unterstützung ich nicht bis hierhin gekommen wäre.

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Veröffentlichungen

- **K. Wähler**, A. Ludewig, P. Szabo, K. Harms, E. Meggers, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2014**, *accepted*.
- **K. Wähler**, K. Kräling, H. Steuber, E. Meggers, *ChemistryOpen* **2013**, *2*, 180-185.
- A. Kastl, S. Dieckmann, **K. Wähler**, T. Völker, L. Kastl, A. L. Merkel, A. Vultur, B. Shannan, K. Harms, M. Ocker, W. J. Parak, M. Herlyn, E. Meggers, *ChemMedChem* **2013**, *8*, 924-927.

Posterbeiträge

- **K. Wähler**, A. Ludewig, P. Szabo, E. Meggers, *ICBIC16*, Grenoble, Juli 2013 (Posterpreis).
- A. Kastl, S. Dieckmann, **K. Wähler**, E. Meggers, *ISMC 2012*, Berlin, September 2012.

Inhaltsverzeichnis

Abstract	I
1. Theoretischer Teil	1
1.1. Metalle in der Medizin	2
1.1.1. Metalle in der Diagnostik	2
1.1.2. Metalle in der Therapie	3
1.2. Photodynamische Therapie als Behandlungsmöglichkeit gegen Krebs	8
1.2.1. Funktionsweise der Photodynamischen Therapie	8
1.2.2. Anwendung der Photodynamischen Therapie	11
1.3. Proteinkinase-Inhibitoren als Behandlungsmöglichkeit gegen Krebs	13
1.3.1. Proteinkinasen	13
1.3.2. Proteinkinase-Inhibitoren	17
2. Aufgabenstellung	21
3. Ergebnisse und Diskussion	23
3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie	23
3.1.1. Zusammenfassung der bereits bekannten Ergebnisse	23
3.1.2. Bestimmung der Singulett-Sauerstoff-Produktion der Rhenium(I)- Komplexe	25
3.1.3. Optimierung der Stabilität der Rhenium(I)-Komplexe	32
3.1.4. Optimierung der Anregungswellenlänge der Rhenium(I)-Komplexe .	44
3.1.4.1. Verwendung des Isochinolinocarbazol-Gerüsts	44
3.1.4.2. Modifizierung des Indol-Gerüsts des Pyridocarbazols . . .	47
3.1.4.3. Modifizierung des Pyridinringes des Pyridocarbazols . . .	57
3.1.4.4. Überprüfung der photozytotoxischen Eigenschaften	62
3.1.5. Lokalisation der Rhenium(I)-Komplexe	67
3.1.6. Bestimmung der inhibitorischen Eigenschaften der Rhenium(I)- Komplexe	84
3.1.7. Übertragbarkeit des Konzeptes auf andere Metalle	87

3.2. Ruthenium(II)-Phenanthrolin-Komplexe als Proteinkinase-Inhibitoren . . .	91
3.2.1. Untersuchung der inhibitorischen Eigenschaften	91
3.2.2. Aufklärung des Bindungsmodus durch eine Co-Kristallstruktur . . .	95
4. Zusammenfassung und Ausblick	99
4.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie	99
4.2. Ruthenium(II)-Phenanthrolin-Komplexe als Proteinkinase-Inhibitoren . . .	104
5. Experimenteller Teil	107
5.1. Allgemeine Arbeitsvorschriften und -techniken	107
5.2. Spektroskopische und analytische Methoden	108
5.3. Darstellung der Liganden	110
5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe	119
5.5. Darstellung der Ruthenium(II)-Komplexe	144
5.6. Weiterführende Untersuchungen	146
5.6.1. Messung der Absorptionsspektren	146
5.6.2. Stabilitätsmessungen	146
5.6.3. Singulett-Sauerstoff Messungen	146
5.6.4. Zytotoxizitätsmessungen	147
5.6.5. Kinaseassays	148
5.6.6. Proteinkristallisation	149
5.6.7. Lokalisationsexperimente	150
A. Anhang	167
A.1. Abkürzungsverzeichnis	167
A.2. Verbindungsverzeichnis	171
A.2.1. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.1	171
A.2.2. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.2	171
A.2.3. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.3	171
A.2.4. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.4	172
A.2.5. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.5	174
A.2.6. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.7	177

A.2.7. Verbindungen aus Abschnitt 3.2.1	178
A.3. Singulett-Sauerstoff-Daten	179
A.4. Photozytotoxizitätsdaten	182
A.5. Ergebnisse der Tocopherol-Messungen	184
A.6. Ergebnisse der EC ₅₀ -Messungen	185
A.7. Ergebnisse der IC ₅₀ -Messungen	187
A.8. Kristallstrukturdaten	192
A.9. KINOME <i>Scan</i> -Ergebnisse der Firma DiscoveRx	197

Abstract

Rhenium(I) Complexes in Photodynamic Therapy

Photodynamic therapy (PDT) has become a promising field in cancer treatment. This approach is based on a photosensitizer (PS) which is irradiated with visible light in the presence of oxygen to generate reactive oxygen species (ROS), like $^1\text{O}_2$, ultimately leading to cell death. Until now many well-established PS depend on purely organic molecules like porphyrin derivatives, chlorines, phthalocyanines or porphycenes. However, metal complexes constitute an attractive class of compounds in PDT due to their ability to produce singlet oxygen in a more efficient way. Furthermore, they have features such as structural diversity and complexity, tunable ligand exchange kinetics or unusual reactivities.

This dissertation deals with the development of rhenium(I) complexes for photoactivated cancer therapy. In order to improve their stability and excitation wavelength the scaffold of the rhenium(I) complexes with a pyridocarbazole ligand was functionalized. By replacing the monodentate ligand against a strong σ -donor, like trimethylphosphine or imidazole, no signs of decomposition can be monitored by ^1H NMR spectroscopy. The introduction of a π -donating substituent in the indole and a σ -accepting substituent in the pyridine moiety of the pyridocarbazole ligand leads to a bathochromatic shift of the absorbance band. In this aspect a rhenium(I) complex, which initiates apoptosis in HeLa cells at wavelengths of $\lambda \geq 620$ nm, could be synthesized.

To get an idea which mechanisms may occur in the cell further experiments were carried out. In this aspect the synthesis of a biotin-labeled complex is described which was localized in HeLa cells. The rhenium(I) compound seems to accumulate in different membranes of the cell and introduces the mechanism of lipid peroxidation which leads to cell death by apoptosis.

Metal complexes with a pyridocarbazole ligand are well-known protein kinase inhibitors. Therefore the rhenium(I) compounds were tested for their inhibitory properties which led to IC_{50} values in the nanomolar range for the protein kinase Pim1 as model system at an ATP concentration of $10\text{ }\mu\text{M}$. Thus, the organometallics show a dual function in a single drug which render them an attractive class of compounds for photodynamic as well as targeted therapy.

Phenanthroline Complexes as Protein Kinase Inhibitors

One project in the MEGGERS group deals with the design of metal complexes as selective and potent protein kinase inhibitors. The compounds are based on a pyridocarbazole ligand which forms hydrogen bonds to the hinge region of the ATP binding pocket. One major drawback of this system is the lengthy and complicated synthesis which causes problems for scale-up procedures. Furthermore, it tends to address only a few kinases within the human kinome.

This thesis describes the design of a new pharmacophore ligand which is based on a phenanthroline system. The synthesized ruthenium(II) complex is a micromolar inhibitor for the protein kinases DYRK1A, Pim1 and Pim2 at an ATP concentration of $1\text{ }\mu\text{M}$. A co-crystal structure of the compound with Pim1 reveals that the complex forms no hydrogen bonds with the hinge region of the ATP binding site, but instead with amino acid residues, which are located at the opposite site of the binding pocket. So the organometallic might be a promising lead structure for the development of potent and selective non-hinge-binding ATP-competitive inhibitors.

1. Theoretischer Teil

Krebs ist neben Herz-Kreislauferkrankungen eine der häufigsten Krankheiten, nicht nur in Deutschland sondern weltweit (Abb. 1.1). Er tritt in vielen unterschiedlichen Modifikationen auf, wobei Verdauungs- und Atmungsorgane am stärksten betroffen sind.^[1]

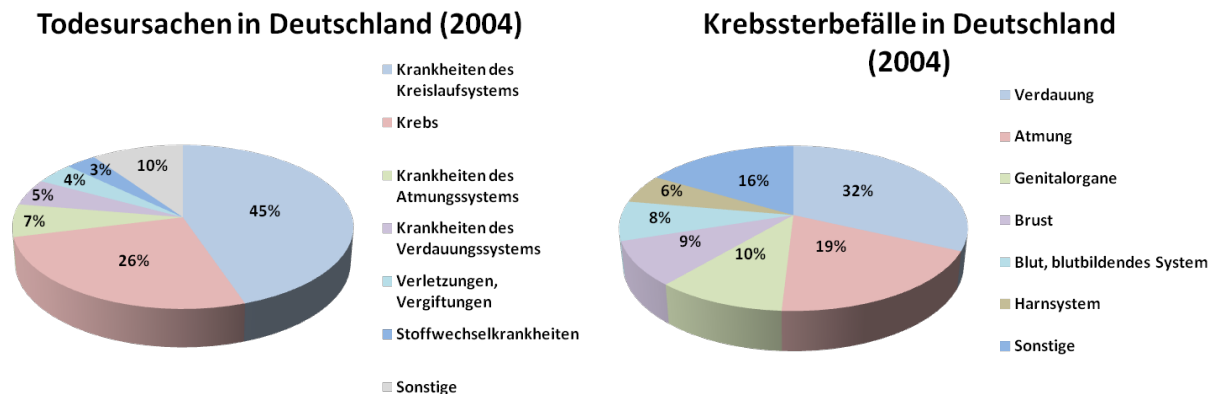


Abb. 1.1: Darstellung der häufigsten Todesursachen (links) und der Krebssterbefälle (rechts) 2004 in Deutschland.^[1]

Zwar sind die Heilungschancen für Krebs in den letzten 30 Jahren stark angestiegen, trotzdem verlaufen immer noch viele Erkrankungen tödlich, abhängig von der Früherkennung, der Art des Tumors und der resultierenden Therapiemöglichkeit. Heutzutage beruhen Heilmethoden häufig auf einer operativen Entfernung des Tumors sowie der Chemo- oder Strahlentherapie. Zusätzlich können Hormon- oder Immuntherapie infrage kommen. Diese Arten der Behandlung sind aber mit starken Nebenwirkungen behaftet, da eingesetzte Zytostatika nicht nur kranke, sondern auch gesunde Zellen angreifen. Außerdem können Resistenzen gegen das Arzneimittel auftreten.^[2]

Aus diesem Grund ist die Entwicklung neuer Krebsmedikamente bzw. neuer Therapiemöglichkeiten entscheidend. Ein Mittel ist hierbei die gezielte Krebstherapie (*targeted therapy*), bei welcher für Krebszellen selektive Medikamente eingesetzt werden. Möglicher Angriffspunkt ist dabei die Entwicklung von Proteinkinase-Inhibitoren, da einige Enzyme in Krebszellen überexprimiert werden (Kap. 1.3).^[3] Einen weiteren Ansatz verfolgt die photodynamische Therapie (PDT; Kap. 1.2), die in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen hat und eine schonende Methode gegenüber herkömmlichen Chemotherapeutika darstellt.^[4]

1.1. Metalle in der Medizin

Metalle finden schon seit mehreren Jahrtausenden medizinische Anwendung. Bereits die alten Ägypter benutzten Kupfersulfat für die Sterilisation von Wasser. In China und der arabischen Welt wurden auf Gold basierte Medikamente verwendet, während Zink die Wundheilung der Römer unterstützt hat. Selbst giftige Metalle wie Quecksilber wurden zur Behandlung der Syphilis eingesetzt.^[5] Heutzutage wird der Einsatz von Metallverbindungen systematisch untersucht, was die bioanorganische Chemie zu einem Forschungsgebiet macht, welches großes Potential in der pharmazeutischen Industrie hat.^[6–9] Sie bietet die Möglichkeit zur Entwicklung neuer Therapeutika und Diagnostika. Außerdem spielen Metalle in vielen biologischen und biomedizinischen Prozessen eine wichtige Rolle, so z. B. als Cofaktoren in bestimmten Enzymen.^[10] Da die Anwendungsbreite dieser Verbindungsklasse in der Medizin sehr groß ist, kann im Folgenden nur auf eine kleine Auswahl eingegangen werden.

1.1.1. Metalle in der Diagnostik

Ein Teilgebiet der Medizin, in welcher Metallkomplexe häufig eingesetzt werden, ist die Diagnostik, wobei sie dort entweder als Kontrastmittel oder als Radionuklid in der Bildgebung verwendet werden (Abb. 1.2).^[11]

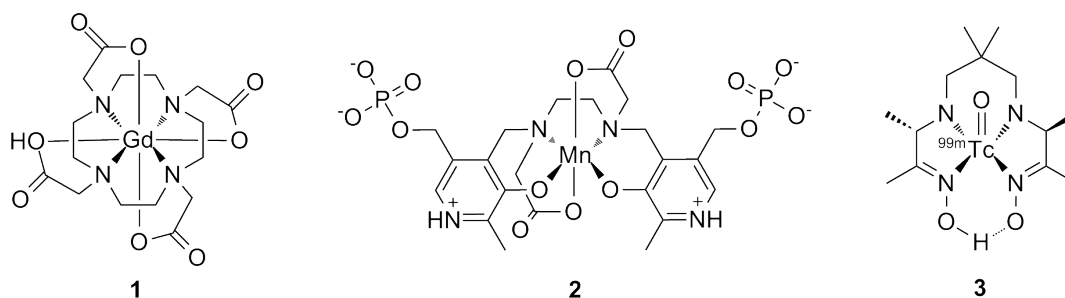


Abb. 1.2: Beispiele für metallorganische Verbindungen, die in der Diagnostik eingesetzt werden: Gado- tersäure (**1**, links), Mangafodipir (**2**, Mitte) und Ceretec (**3**, rechts).

Ein Beispiel dafür ist Gd(III)-Komplex **1** (Abb. 1.2, links), der in der Magnetresonanztomographie (MRT) eingesetzt wird.^[12] Aufgrund des Paramagnetismus der Verbindung wird die Relaxationszeit der Protonen, hauptsächlich von Wasser, in dessen Nähe verkürzt, was zu einer erhöhten Signalintensität und damit zu einer Kontrastverstärkung

1.1. Metalle in der Medizin

führt. Gadotersäure (**1**) wird als unspezifisches Kontrastmittel verwendet, da es sich in allen Organen außerhalb des zentralen Nervensystems anreichert.^[13]

Neben Gd(III)-Verbindungen können auch Mn(II)-Komplexe aufgrund ihrer paramagnetischen Eigenschaften als Kontrastmittel genutzt werden. Ein Beispiel ist Mangafodipir (**2**, Abb. 1.2, Mitte), das hauptsächlich von der Leber aufgenommen und daher für die Diagnose von Lebermetastasen verwendet wird.^[14, 15]

Eine weitere Methode für die diagnostische Bildgebung ist die Verwendung von Radionukliden, wobei insbesondere der γ -Strahler $^{99\text{m}}\text{Tc}$ in zahlreichen Radiopharmaka genutzt wird. Ein Beispiel ist $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Komplex **3** (Abb. 1.2, rechts), auch unter dem Namen Ceretec bekannt, der als Perfusionsmittel für den Zerebrallbereich zur Diagnose von Schlaganfällen zugelassen ist. Nach Aufnahme im Gehirn erfolgt eine Umwandlung in eine hydrophilere Substanz, die eine längere Verweilzeit besitzt.^[16, 17]

1.1.2. Metalle in der Therapie

Neben der Diagnose von Krankheiten können Metallverbindungen auch in der Therapie eine wichtige Rolle spielen. Aufgrund der Vielzahl ihrer Eigenschaften, wie ihre strukturelle Vielfalt oder ihre ungewöhnliche Reaktivität, besitzen sie das Potential ein weites Anwendungsspektrum in der Medizin abzudecken.^[10, 18]

Ein großes Forschungsgebiet liegt hierbei im Bereich der Entwicklung zytotoxischer Platinverbindungen, wie es z. B. das Krebsmedikament Cisplatin (**4**) ist.^[19] Dabei beruht der therapeutische Effekt auf einer Querverknüpfung des Komplexes zur DNA (Abb. 1.3). Cisplatin hydrolysiert zunächst zu Mono- und Diaqua-Komplexen, bevor eine Reaktion mit dem N7-Atom der Base Guanin stattfindet, da dies die elektronenreichste und somit am leichtesten oxidierbare Stelle der DNA ist. Hierbei kann zwischen einer Intrastrang- (innerhalb eines DNA-Stranges) und einer Interstrang-Verknüpfung (zwischen benachbarten DNA-Strängen) unterschieden werden. Diese Verknüpfung führt zu einer beträchtlichen Änderung der Konformation der DNA, was DNA-Reparaturmechanismen in Gang setzt, die den programmierten Zelltod (Apoptose) in Zellen einleiten, wenn eine Reparatur nicht möglich ist.^[10, 20–22] Neben Cisplatin sind weitere Platinverbindungen, wie Carboplatin oder Oxaliplatin, für die Verwendung als Krebsmedikamente zugelassen. Da mittlerweile

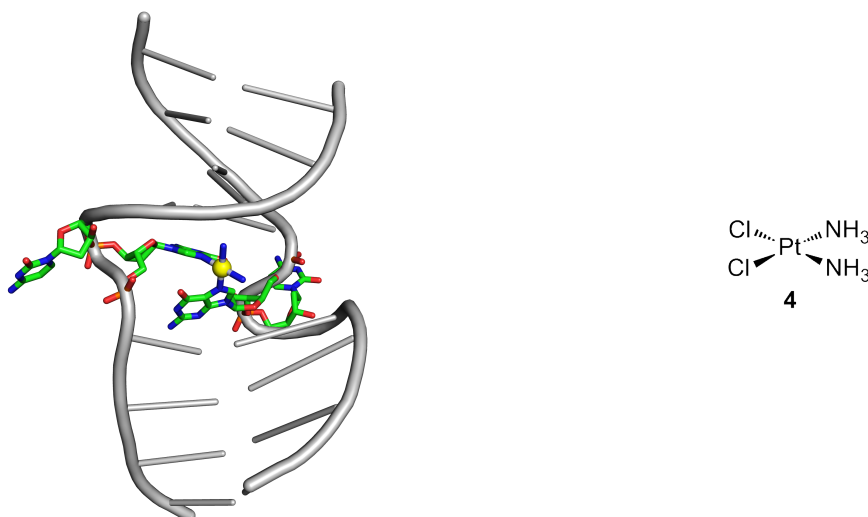


Abb. 1.3: Kristallstruktur von Cisplatin (**4**) verknüpft mit der DNA-Sequenz 5'-CTCTCGCTCC-3' (links). Dargestellt ist die Querverknüpfung von Cisplatin (gelb) mit zwei Guanin-Einheiten der DNA (grün; PDB:1A2E) mit einer Positionierung des Platinatoms in der kleinen Furche.

Resistenzen gegen die zulässigen Komplexe in einigen Krebszellen beobachtet werden können, bietet die Chemie dieser Verbindungen Raum für die Forschung und Entwicklung neuer Substanzen.^[23,24]

Ein weiteres Konzept, welches neben der Interaktion mit DNA als Krebstherapie genutzt wird, ist die Verwendung von Radionukliden. Beispiele hierfür sind die Isotope $^{186/188}\text{Rhenium}$, da sie nicht nur in der Diagnostik, wie das niedrigere Homolog $^{99\text{m}}\text{Tc}$, sondern auch in der Therapie Anwendung finden. Sie sind sowohl γ - als auch β -Strahler, was eine Kombination von Bildgebung und Therapie möglich macht.^[25] Außerdem führt die Metabolisierung zur Bildung von Perrhenat (ReO_4^-), das über die Niere gefahrlos ausgeschieden werden kann und eine geringere Strahlenbelastung für die Patienten zur Folge hat.^[26]

Der generelle Aufbau vieler solcher Verbindungen für die Radioimmuntherapie folgt dabei einem bifunktionalen Konzept, bei welchem das Radionuklid mit einem für Krebszellen spezifischen Antikörper verbunden ist (Abb. 1.4). Dieser Antikörper sorgt für eine Anreicherung des Wirkstoffes in den Zellen, während die β -Strahlung von Rhenium für eine Schädigung des umliegenden Gewebes sorgt. Ein Beispiel hierfür ist der sehr stabile ^{186}Re -MAG3-Komplex **5**, welcher unter anderem für die Behandlung von Knochenkrebs eingesetzt wird.^[27,28]

1.1. Metalle in der Medizin

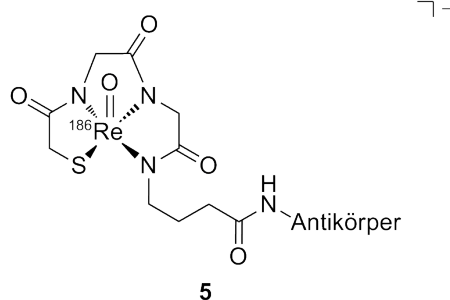


Abb. 1.4: Darstellung des ^{186}Re -Immunkonjugates **5**, welches mit einem Antikörper verbunden ist.

Neben der Verwendung von Rhenium als Radionuklid hat die Gruppe um LO eine Reihe von lumineszierenden Komplexen veröffentlicht, welche interessante biologische Eigenschaften haben.^[29] Diese Verbindungen beruhen auf einem Rhenium(I)-Polypyridin-Gerüst, welches mit einer Biotin-Einheit verknüpft ist. Durch die Detektion ihrer Lumineszenz ist es möglich, die Aufnahme der Verbindung in die Zelle und den Transport zu ihrem biologischen Wirkungsort zu verfolgen. Aufgrund der Verknüpfung mit Biotin, das eine hohe Affinität zu Avidin oder Streptavidin besitzt,^[30] kann das gebundene Zielmolekül durch Affinitätschromatographie isoliert und untersucht werden. Die Kombination dieser beiden Eigenschaften ermöglicht die Entwicklung weiterer biologischer Untersuchungsmethoden, was diese Komplexe zu einer interessanten Klasse an Verbindungen macht.

Ein weiteres Metall, auf welches hier eingegangen werden soll, ist Ruthenium, das in den Oxidationsstufen II bis IV vorliegen kann und somit ein breites Anwendungsspektrum abdeckt. Bis heute finden diese Verbindungen zwar noch keine Anwendung in der Klinik, jedoch sind zwei Ruthenium-basierte Komplexe bereits in der klinischen Phase und haben Phase I erfolgreich abgeschlossen. Dabei handelt es sich um NAMI-A (**6**) und KP1019 (**7**, Abb. 1.5).^[31–33]

NAMI-A (**6**) wurde als erste Ruthenium-Verbindung für die Verhinderung der Bildung von Metastasen ohne die Beeinflussung des primären Tumors in die klinische Phase geführt, wobei der Effekt bei Lungenmetastasen am größten ist. In Kombination mit klassischen Krebsmedikamenten, wie z. B. Gemcitabin, entfaltet es seine volle Wirksamkeit, die auf verschiedene Wechselwirkungen innerhalb und außerhalb der Zelle zurückgeführt werden kann. Die wichtigsten sind hier kurz aufgelistet: Zum einen blockiert NAMI-A den Ablauf des Zellzyklus in der G_2M -Phase. Außerdem inhibiert es die Erk 1/2-Aktivierung, was

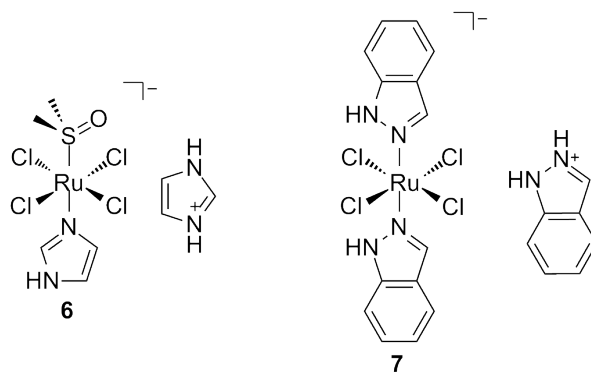


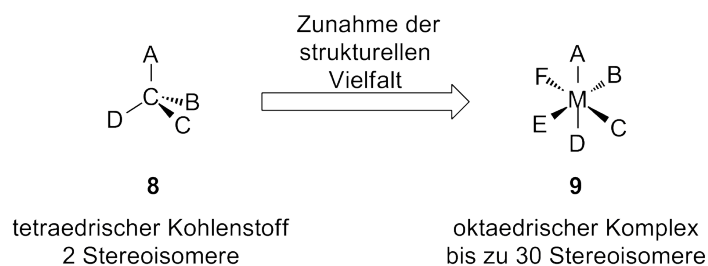
Abb. 1.5: NAMI-A (**6**) und KP1019 (**7**) befinden sich als Krebsmedikamente momentan in der klinischen Phase.

zur Apoptose in Endothelzellen führt oder es verhindert das unkontrollierte Zellwachstum durch Regulierung des Wachstumsfaktors TGF β 1 in Fibroblasten und Tumorzellen. NAMI-A reichert sich hauptsächlich in kollagenreichem Gewebe sowie in den Nieren und der Leber an.^[31, 32]

KP1019 (**7**) hingegen verhindert die Vermehrung von Eierstock-Krebszellen, verursacht DNA-Schäden und Apoptose in Darmkrebszellen und reduziert die Tumorgroße in Tiermodellen. Trotzdem ist der genaue Wirkmechanismus nicht bekannt, wobei mittlerweile davon ausgegangen wird, dass verschiedene Faktoren und Zielmoleküle eine Rolle spielen. So produziert KP1019 reaktive Sauerstoffspezies, die in der DNA oxidativen Stress auslösen und somit Apoptose einleiten. Außerdem können Interstrang-Verknüpfungen mit der DNA auftreten, was zu einem direkten Schaden dieser führt. Neben DNA-Schäden kommen weitere Ursachen für die Einleitung des Zelltodes in Frage.^[31, 34]

In allen bisher gezeigten Beispielen greift das Metallzentrum aktiv in die ablaufenden Prozesse in der Zelle ein und ist somit maßgeblich an der zellulären Antwort und an der Einleitung des Zelltodes beteiligt. Ein anderes Konzept wird in der Arbeitsgruppe MEGGERS verfolgt. Hier wird das Metallzentrum lediglich als strukturgebende Einheit verwendet. Während ein Kohlenstoffzentrum auf eine lineare (sp -Hybridisierung), trigonal-planare (sp^2 -Hybridisierung) oder tetraedrische (sp^3 -Hybridisierung) Geometrie beschränkt ist, können Metallzentren deutlich höhere Koordinationszahlen besitzen. Dies hat eine Steigerung der strukturellen Vielfalt zur Folge, da ein tetraedrisches Kohlenstoffzentrum lediglich zwei Stereoisomere bildet, während ein oktaedrisch koordiniertes Metallzentrum

1.1. Metalle in der Medizin



Schema 1.1: Anzahl der möglichen Stereoisomere für ein tetraedrisches Kohlenstoffzentrum (**8**) im Vergleich zu einem oktaedrischen Metallzentrum (**9**).^[35]

bis zu 30 Stereoisomere besitzen kann (Schema 1.1). Die Möglichkeit, Liganden im dreidimensionalen Raum anzuordnen, erhöht sich dadurch enorm und erlaubt so die Synthese neuer Strukturen, die mit einem tetraedrischen Zentrum nicht möglich wären.^[35–39]

Dieses Konzept konnte bereits erfolgreich für die Darstellung selektiver und sehr potenter Proteinkinase-Inhibitoren angewandt werden (Kap. 1.3).

1.2. Photodynamische Therapie als Behandlungsmöglichkeit gegen Krebs

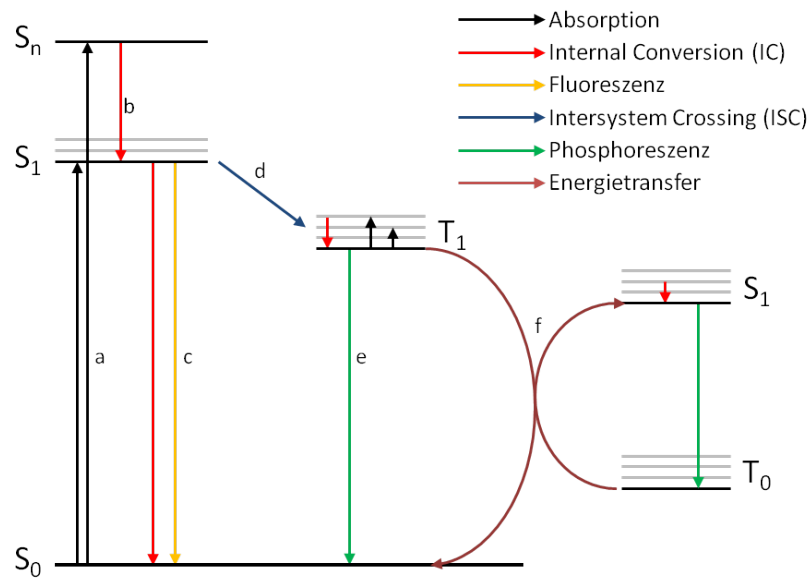
Die heilende Wirkung von Licht ist nunmehr seit mehr als 3000 Jahren bekannt, denn schon die alten Ägypter haben durch Belichtung verschiedene Erkrankungen, wie z. B. Schuppenflechte behandelt. Im frühen Griechenland war es ein gern gesehener Zeitvertreib sich mit dem ganzen Körper in die Sonne zu legen, da diese sog. Heliotherapie viele Krankheiten heilen sollte. Ende des 19. Jahrhunderts schließlich wurde die Phototherapie durch die Entdeckung von FINSEN, dass rotes Licht die Bildung von Pocken verhindert, weiterentwickelt, was 1903 mit dem Nobelpreis anerkannt wurde. Etwa gleichzeitig fand RAAB heraus, dass die Verwendung verschiedener Chemikalien in Kombination mit Licht den Zelltod induzieren kann, was letztlich zur modernen photodynamischen Therapie (PDT) führte.^[4, 40, 41]

1.2.1. Funktionsweise der Photodynamischen Therapie

Unter photodynamischer Therapie wird die Behandlung von Tumoren oder Gewebeveränderungen mit Licht und einer durch Licht aktivierbaren Substanz, dem sog. Photosensibilisator (PS), in Kombination mit Sauerstoff verstanden. Deshalb können nur Tumore behandelt werden, welche leicht bestrahlt werden können, wie z. B. die Haut, Blase, Gebärmutterhals, Lunge oder Magen.^[42] Der PS ist spezifisch in Krebszellen oder krankem Gewebe lokalisiert und wird mit Licht bestimmter Wellenlänge aktiviert. Dabei überträgt er die aufgenommene Energie auf molekularen Sauerstoff, um eine reaktive Sauerstoffspezies (ROS) zu generieren.^[4] Da die Reaktion aufgrund der geringen Halbwertszeit von Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$, $< 0.04 \mu\text{s}$) nur in direkter Nähe des PS auftritt, finden daran anschließende biologische Prozesse demnach nur in bestrahltem Gewebe statt (der Aktionsradius von $^1\text{O}_2$ beträgt etwa $0.02 \mu\text{m}$).^[43] Durch den induzierten oxidativen Stress können DNA, Proteine oder Lipide oxidiert werden, d. h. es entsteht ein zellulärer Schaden, der entweder zur Reparatur oder zur Einleitung des Zelltodes führt.^[44] Weitere photochemische Reaktionen, an denen Sauerstoff nicht beteiligt ist, sind unter dem Begriff Photochemotherapie bekannt.^[45]

Die Generierung von Singulett-Sauerstoff kann durch ein JABLONSKI-Diagramm

1.2. Photodynamische Therapie als Behandlungsmöglichkeit gegen Krebs



Schema 1.2: JABLONSKI-Diagramm für die Darstellung der Anregung und Relaxationswege eines Photosensibilisators.^[46]

anschaulich beschrieben werden (Schema 1.2). Während der Bestrahlung des Photosensibilisators absorbiert dieser ein Photon im sichtbaren Spektralbereich und geht so vom S_0 -Grundzustand in einen angeregten Singulett-Zustand, häufig in den S_1 -Zustand, über (a). Es folgt eine Relaxation in den S_1 -Zustand, von welchem ein Übergang in den Grundzustand S_0 entweder durch nichtstrahlende (*Internal Conversion* (IC), b) oder strahlende (Fluoreszenz, c) Relaxation stattfindet. Neben diesen beiden Möglichkeiten kann auch ein Wechsel der Spin-Multiplizität, d. h. ein Übergang aus dem Singulett- in den Triplett-Zustand (*Intersystem Crossing* (ISC), d), erfolgen. Von dort ist wiederum eine nichtstrahlende (ISC) oder eine strahlende (Phosphoreszenz, e) Relaxation in den S_0 -Zustand möglich. Da dieser Übergang spinverboten ist, hat der T_1 -Zustand eine deutlich längere Lebensdauer als der S_1 -Zustand. Die Generierung von 1O_2 erfolgt durch einen intermolekularen Energietransfer auf molekularen Sauerstoff, wodurch der PS durch ISC wieder in den S_0 -Zustand relaxiert, während im selben Zuge Sauerstoff in den Singulett-Zustand angeregt wird (Typ II-Reaktion).^[44, 46, 47]

Neben einem Energietransfer auf Sauerstoff kann der PS im Triplett-Zustand auch direkt mit dem Substrat, wie der Zellmembran oder einem anderen Molekül, reagieren, indem ein Wasserstoff-Atom zur Bildung von Radikalen übertragen wird. Die gebildeten Radikale

wiederum wechselwirken mit Sauerstoff und formen oxidierte Produkte (Typ I-Reaktion). In welchem Verhältnis beide Reaktionen auftreten, hängt vom PS, der Konzentration des Substrats oder von Sauerstoff und der Bindungsaffinität des Sensibilisators zum Substrat ab. Wie groß der Schaden durch Bestrahlung und die damit verbundene Zytotoxizität ist, richtet sich nach der Lokalisierung des PS in der Zelle, dessen Konzentration, der Lichtdosis, der Sauerstoff-Verfügbarkeit oder der Zeitspanne, die zwischen der Verabreichung des Wirkstoffes und der Belichtung liegt.^[43, 44]

Für die Anregung des Photosensibilisators ist die Wellenlänge von entscheidender Wichtigkeit. Generell können nur kleine Tumore behandelt werden, da die Eindringtiefe des Lichtes ins Gewebe im Idealfall auf wenige Millimeter begrenzt ist.^[48] Die PS sollten starke Absorptionsbanden bei Wellenlängen > 600 nm haben, da erst in diesem Bereich die Eigenabsorption verschiedener Proteine, wie z. B. von Hämoglobin oder Melanin, nachlässt. Am höchsten ist die Lichtdurchlässigkeit bei etwa 800 nm. Eine Anregungswellenlänge von 1000 nm sollte nicht überschritten werden, weil die Generierung von Singulett-Sauerstoff eine Energie von 94 kJ/mol benötigt, die in diesem Bereich nicht mehr gegeben ist.^[49] Außerdem sorgt die Verwendung von IR-Strahlung für weitere Zellschäden.

Die Induktion von oxidativem Stress und die damit in der Zelle ablaufenden Mechanismen hängen stark von der Lokalisierung des Photosensibilisators ab.^[50] Hydrophobe Substanzen finden sich häufig im Endoplasmatischen Retikulum (ER), dem Golgi-Apparat oder in den Mitochondrien,^[51] während hydrophile Verbindungen an die Zelloberfläche adsorbieren und durch Endosomen oder Lysosomen in die Zellen gebracht werden.^[52] Positiv-geladene PS werden durch das negative Membranpotential in die Mitochondrien gezogen.^[53] Je nach Lokalisierung des Photosensibilisators können unterschiedliche Arten des Zelltodes auftreten. Der programmierte Zelltod (Apoptose) tritt häufig bei Lokalisierung in den Mitochondrien oder im ER auf, während Nekrose (unkontrollierter Zelltod) in vielen Fällen durch die Plasmamembran oder die Lysosomen eingeleitet wird.^[54, 55]

1.2. Photodynamische Therapie als Behandlungsmöglichkeit gegen Krebs

1.2.2. Anwendung der Photodynamischen Therapie

Die bis heute am besten untersuchten Systeme für die Verwendung als Photosensibilisatoren sind Porphyrine, Chlorine, Phthalocyanine oder Porphycene.^[56–58] Die photodynamische Therapie beruht dabei auf der Entdeckung, dass die Behandlung roter Blutkörperchen mit Hämatoporphyrin und Licht zu deren Zelltod führt. Der Durchbruch gelang schließlich vor 50 Jahren mit der Synthese eines Hämatoporphyrin-Derivates (HPD), welches in Tumoren lokalisiert ist.^[59] 1975 konnten erste *in vivo* Studien zeigen, dass die Verwendung von PDT das Wachsen von Hirntumoren bei Ratten verhindert und die komplette Heilung von Blasenkrebs bei Mäusen induziert.^[60] Ein Jahr später erfolgten schließlich die ersten erfolgreichen Versuche an Menschen, die an Blasenkrebs erkrankt waren.^[61] Neben HPD befinden sich mittlerweile verbesserte selektive und potente Sensibilisatoren in der klinischen Phase.

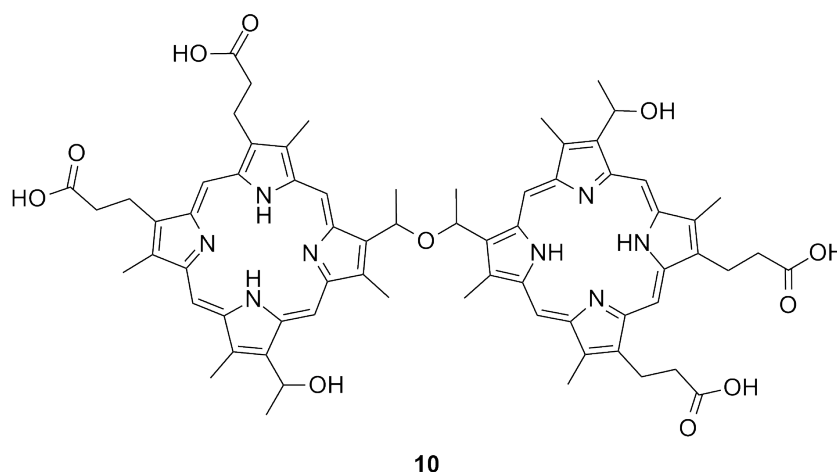


Abb. 1.6: Darstellung der aktiven Verbindung des ersten zugelassenen Photosensibilisators Photofrin (**10**).

1993 wurde Photofrin (**10**, Abb. 1.6) schließlich in Kanada für die Behandlung von Blasenkrebs zugelassen. Es handelt sich dabei um teilweise gereinigtes HPD, was Mono-, Di- oder Oligomere enthält, wobei die aktive Komponente aus zwei, über eine Ether-Bindung verknüpfte Porphyrineinheiten besteht.^[62] Obwohl Photofrin mittlerweile in vielen Ländern sehr erfolgreich in der photodynamischen Therapie eingesetzt wird, besitzt diese Verbindung einige Nachteile. Durch die Vielzahl unterschiedlicher Komponenten ist eine Reproduktion der Zusammensetzung schwierig. Da sie außerdem bei einer Wellenlänge von

630 nm einen niedrigen molaren Absorptionskoeffizienten besitzt, müssen hohe Konzentrationen an Sensibilisator und Licht verwendet werden. Des Weiteren fehlt eine gewisse Selektivität gegenüber Krebszellen, was eine langanhaltende Photosensitivität zur Folge hat. Dies bedeutet, dass Patienten noch vier bis sechs Wochen nach Behandlung Sonnenlicht meiden sollten.^[63, 64]

Aus diesem Grund wurden weitere Photosensibilisatoren entwickelt, die bei einer höheren Wellenlänge angeregt werden können, eine höhere Tumorselektivität besitzen und bei denen eine geringere Hautsensitivität besteht. 2001 wurde in Europa der auf einem Chloringerüst basierte Sensibilisator Foscan zugelassen, der für die Behandlung von Kopf- und Halstumoren eingesetzt wird. Er besitzt eine sehr große Effizienz, da nur geringe Dosen an Licht und Verbindung eingesetzt werden müssen.^[65, 66] Außerdem finden heute noch u. a. Levulan und Metvix Anwendung in der PDT. Sie werden in den Zellen verstoffwechselt und bilden so den eigentlichen PS Protoporphyrin IX.^[67]

Neben der Behandlung verschiedener Arten von Krebs wird die photodynamische Therapie hauptsächlich bei Augen- oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen, in der Dermatologie oder der Rheumatologie eingesetzt.^[68] Außerdem haben Porphyringerüste die Eigenschaft, dass sie fluoreszierend sind, weshalb sie für die Detektion von Tumoren verwendet werden können. So konnten bereits 1955 Tumorzellen nach Gabe von HPD während der Untersuchung identifiziert werden.^[69]

Bei der photodynamischen Therapie handelt es sich um eine junge Therapieform, die seit nunmehr 20 Jahren erfolgreich Anwendung in der Klinik findet. Sie bietet Forschern die Möglichkeit Optimierungen an den bisher bekannten Strukturen vorzunehmen. Um beispielsweise eine größere Tumorselektivität zu erhalten, werden Photosensibilisatoren mit Antikörpern verknüpft, die spezifisch an Tumorzellen binden.^[70] Aber auch diese Methode hat ihre Nachteile. So wird sich auch in Zukunft die Forschung mit der Entwicklung neuer Photosensibilisatoren oder der Verbesserung der bereits bekannten Methoden beschäftigen.

1.3. Proteinkinase-Inhibitoren als Behandlungsmöglichkeit gegen Krebs

Viele Medikamente, welche für die Behandlung von Krebs eingesetzt werden, induzieren zwar den Zelltod und finden so als Chemotherapeutika Verwendung, trotzdem können sie nicht ausreichend zwischen gesundem und Tumorgewebe unterscheiden. Die Folge davon sind schwere Nebenwirkungen für die Patienten. Aus diesem Grund soll die Effizienz solcher Therapeutika durch die Unterscheidung der zwei Gewebearten maximiert werden. Ein Ansatzpunkt ist hierbei die gezielte Krebstherapie (*targeted therapy*), bei welcher auf für Krebszellen einzigartige Eigenschaften eingegangen wird. Diese Unterschiede werden gezielt adressiert, was eine geringere Toxizität zur Folge hat.^[71] Eine Möglichkeit bietet die Adressierung von Proteinkinasen, weil einige von ihnen in Krebszellen überexprimiert werden und so an der Entstehung, der Gefäßneubildung oder der Metastasierung von Tumoren beteiligt sind.

1.3.1. Proteinkinasen

Proteinkinasen sind Enzyme, welche die Signaltransduktion in Zellen regulieren und somit eine wichtige Rolle, unter anderem im Zellwachstum, der Zellteilung oder auch in der Apoptose spielen.^[72–77] Ihre Funktionsweise besteht darin, dass sie unter Bildung von Adenosindiphosphat (ADP) die γ -Phosphatgruppe von Adenosintriphosphat (ATP) auf die freie Hydroxylgruppe bestimmter Aminosäureseitenketten übertragen können (Abb. 1.7). Eine Unterteilung von Proteinkinasen kann daher, in Abhängigkeit der Seitenkette, welche phosphoryliert wird, in Serin/Threonin- oder Tyrosinkinasen erfolgen. Bei der Phosphorylierung handelt es sich um einen reversiblen Prozess, der durch sog. Phosphatasen wieder rückgängig gemacht werden kann, da sie die Phosphatgruppen wieder abspalten.^[78–80] Obwohl mehr als 530 Proteinkinasen bekannt sind,^[81] welche die unterschiedlichsten Signalwege steuern und somit verschiedenste Proteine phosphorylieren, besitzt ihre katalytische Domäne im Aufbau nur geringe Unterschiede. Der Aufbau einer solchen Proteinkinase ist beispielhaft für Pim1 in Abb. 1.8 gezeigt.

Die *N*-terminale Domäne (gelb) besteht aus fünf β -Faltblattsträngen und einer α -Helix, während in der *C*-terminalen Domäne (hellblau) hauptsächlich α -Helices vorkommen.

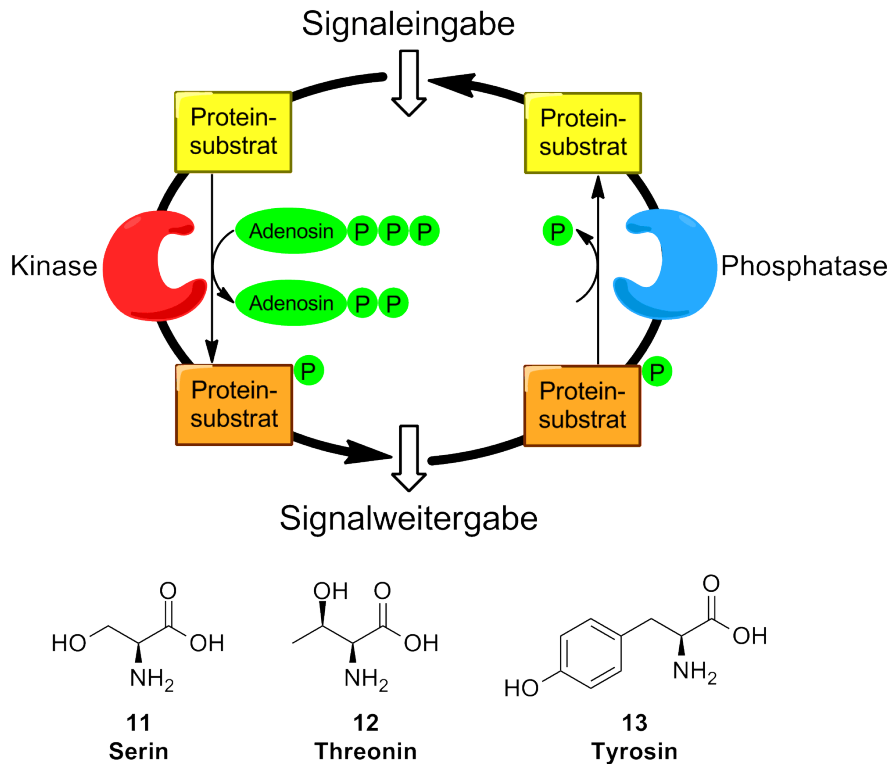


Abb. 1.7: Schematische Darstellung der Phosphorylierung und Dephosphorylierung der Hydroxylgruppe der Aminosäuren Serin (**11**), Threonin (**12**) und Tyrosin (**13**) durch die Übertragung einer Phosphatgruppe P von ATP (grün).^[78]

Außerdem befindet sich dort die Substratbindestelle. Über die sogenannte Scharnierregion (grün), wo sich auch das Erkennungsmotiv für den Adenosinbaustein von ATP befindet, sind die beiden Domänen miteinander verbunden.^[82,83] Die weiteren Bausteine von ATP sowie für den Mechanismus wichtige Magnesiumionen sitzen in der Spalte zwischen den beiden Domänen. Außerdem gibt es noch die Phosphatschleife (rot), welche die ATP-Bindung regelt und in der die glycinreiche Schleife zu finden ist. Neben der katalytischen Schleife (orange) ist weiterhin die Aktivierungsschleife (blau), die das DFG-Motiv (Asp-Phe-Gly) und das APE-Motiv (Ala-Pro-Glu) beinhaltet, als Strukturelement für die katalytische Aktivität wichtig, weil sie die zweiwertigen Magnesiumionen komplexieren und den Transfer des γ -Phosphats von ATP auf das Substrat steuern.^[84]

Obwohl das Grundgerüst jeder Kinase einheitlich ist, lässt ein genauerer Blick auf den ATP-Bindebereich Unterschiede zwischen den einzelnen Kinasen erkennen (Abb. 1.9). Der Adenin-Baustein bildet zwar bis zu zwei Wasserstoffbrücken zu der Peptidkette der

1.3. Proteinkinase-Inhibitoren als Behandlungsmöglichkeit gegen Krebs

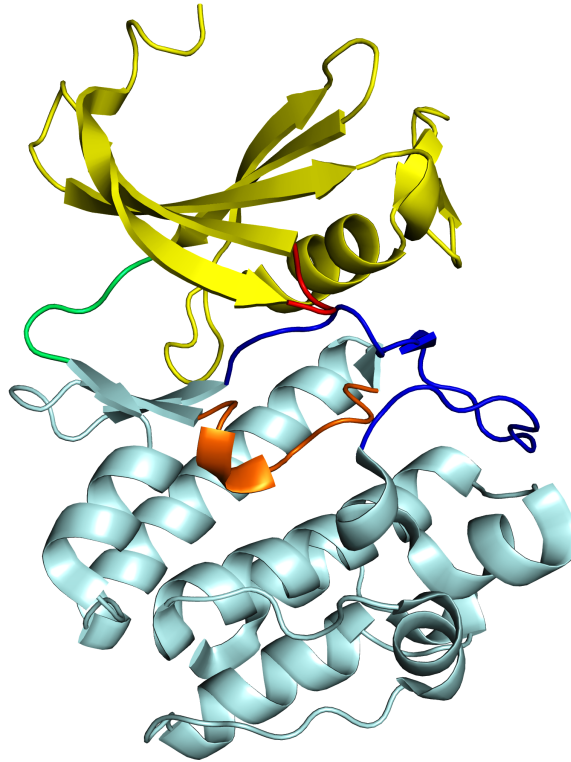


Abb. 1.8: Aufbau einer Proteinkinase am Beispiel Pim1. Die *N*-terminale Domäne (gelb) besteht aus fünf β -Faltblättern und einer α -Helix, die *C*-terminale Domäne (hellblau) hauptsächlich aus α -Helices. Die Scharnierregion ist in grün, die katalytische Schleife in orange, die Phosphatschleife in rot und die Aktivierungsschleife in blau dargestellt (PDB: 4AS0, bearbeitet mit Pymol Molecular Graphics System, Version 1.3, Schrödinger, LLC).

Scharnierregion in jeder Kinase aus (blau), diese wird aber durch den Türsteherrest (grau) und die daran anschließende hintere Tasche (gelb) begrenzt, welche ganz unterschiedliche Eigenschaften besitzen kann.^[78,86,87] Auf der gegenüber liegenden Seite reiht sich die vordere Tasche (grün) an, die in ihrer Ausbildung ebenfalls verschieden ist. Diese beiden Taschen werden von ATP selbst nicht adressiert, spielen aber für die Entwicklung selektiver Inhibitoren eine wichtige Rolle. Die Ribose-Tasche ist in rot dargestellt. Die Zucker-Einheit von ATP ist dort lokalisiert und bildet eine Wasserstoffbrücke zu einer polaren Aminosäureseitenkette aus, die am Anfang der *C*-terminalen Domäne liegt. Eine weitere Tasche stellt die Phosphattasche (orange) dar, in welcher die Triphosphatgruppe von ATP sitzt und in vielen Fällen eine Wasserstoffbrückenbindung zu der Aminosäure Lysin ausbildet. Außerdem befindet sich dort die glycinreiche Schleife, welche für die Orientierung der γ -Phosphatgruppe und somit für den Katalysezyklus entscheidend ist.^[85]

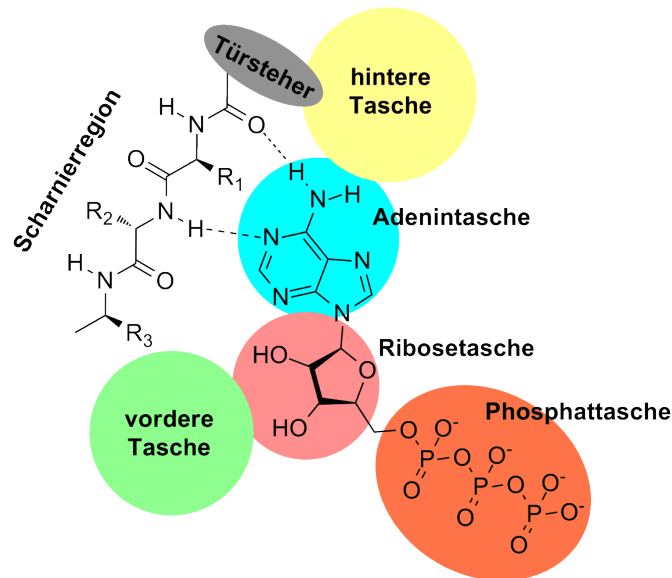


Abb. 1.9: Schematische Darstellung der ATP-Bindetasche. Der Adeninbaustein (hellblau) bindet an die Scharnierregion durch die Ausbildung von bis zu zwei Wasserstoffbrückenbindungen. Benachbart zur ATP-Bindestelle gibt es die vordere (grün) und die hintere Tasche (gelb), die durch den Türsteherrest (grau) begrenzt ist. Daran schließt die Ribosetasche (rot) und die Phosphattasche (orange) an.^[85]

Proteinkinasen Pim1 und Pim2

Die Serin/Threonin-Proteinkinasen Pim1 und Pim2 gehören zur CAMK (*calmodulin dependent kinase*) Gruppe und spielen unter anderem in der Tumorgenese oder der Regulation verschiedener Signalwege für die Zellproliferation, die Zellmigration oder im Zellmetabolismus eine wichtige Rolle. Pim1 ist überexprimiert in akuter myeloischer Leukämie (AML) oder in nicht-hämatologischen Krebsarten, wie Prostatakrebs. Außerdem konnte ein erhöhtes Vorkommen in B-Zellen bei *Non-Hodgkin*-Lymphomen festgestellt werden. Pim2 ist häufig überexprimiert in verschiedenen Krebsarten, wie Leukämie, Multiplen Myeloma oder bei Prostatakrebs. Daher sind sie interessante Zielmoleküle für die Entwicklung von Medikamenten in der Krebstherapie.^[88]

Proteinkinase DYRK1A

DYRK1A (*dual-specificity tyrosine phosphorylation regulated kinase 1A*) ist eine Tyrosinkinase, die in verschiedenen Signalwegen, wie der Zellproliferation, oder bei der Entwicklung des Gehirns wichtig ist. Ihr Gen ist auf einer für das Down-Syndrom kritischen

1.3. Proteinkinase-Inhibitoren als Behandlungsmöglichkeit gegen Krebs

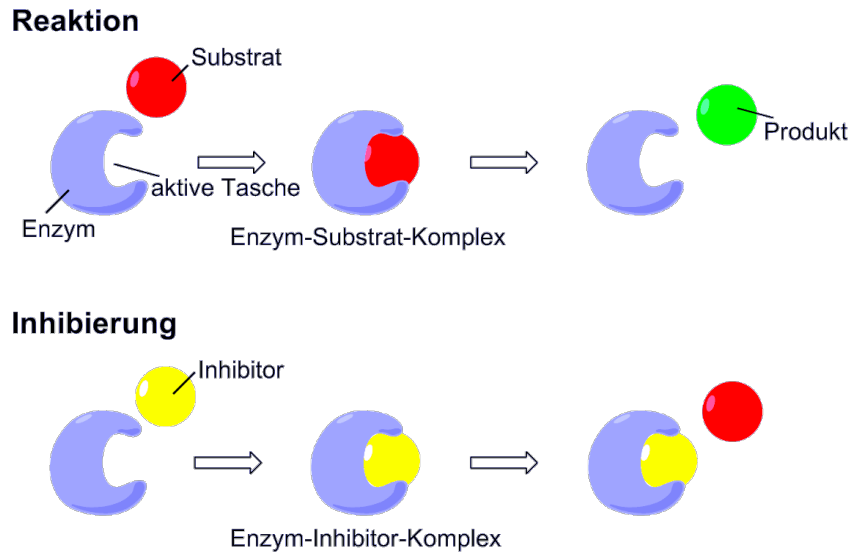
Region auf Chromosom 21 lokalisiert und kommt in Betracht, mitverantwortlich für die Symptome dieser Krankheit aufgrund einer Überexpression zu sein.^[89] Die Entwicklung von Inhibitoren für diese Kinase ist daher wichtig, weil sie die Möglichkeit bieten, die Symptome des Gendefekts zu behandeln.

1.3.2. Proteinkinase-Inhibitoren

Eine Ursache für die Entstehung verschiedener Erkrankungen ist die Fehlregulation einiger Proteinkinasen, was sie zu einem wichtigen Zielmolekül in der modernen Krebstherapie (*targeted therapy*) macht.^[90,91] Die Entwicklung von selektiven Proteinkinase-Inhibitoren, welche die Aktivität des Enzymes hemmen, ist daher ein vielversprechender Ansatz in der Therapie.

Die Aktivität der Enzyme kann auf unterschiedliche Art gehemmt werden. Bei der irreversiblen Hemmung bindet der Inhibitor fest an das Enzym, so dass er gar nicht oder nur sehr langsam dissoziieren kann, was eine Inaktivierung des Enzyms zur Folge hat. Im Gegensatz dazu kommt es bei der reversiblen Hemmung zu einer schnellen Dissoziation des Inhibitors vom Enzym. Ein Typ der reversiblen Hemmung ist die kompetitive Hemmung, bei welcher der Inhibitor an die Substratbindestelle bindet und somit eine Bildung des Enzym-Substrat-Komplexes verhindert (Schema 1.3). Kompetitive Inhibitoren ähneln strukturell oft dem Substrat und treten somit in Konkurrenz um die Bindung in der aktiven Tasche. Bei der unkompetitiven Hemmung wird die Bindestelle des Inhibitors erst durch die Wechselwirkung des Substrats mit dem Enzym gebildet. Der Inhibitor bindet demnach an den Enzym-Substrat-Komplex. Ein letzter Fall ist die nichtkompetitive Hemmung, bei welcher Inhibitor und Substrat gleichzeitig an unterschiedlichen Bindungsstellen des selben Enzyms binden können. Der Enzym-Inhibitor-Substrat-Komplex ist dann nicht mehr in der Lage das Produkt zu bilden.^[92]

Ein bekanntes Beispiel für einen rein organischen Proteinkinase-Inhibitor ist der unter dem Handelsnamen Glivec bekannte Tyrosinkinase-Inhibitor Imatinib (**14**, Abb. 1.10).^[93] Dieser findet Anwendung bei chronischer myeloischer Leukämie (CML), die auf einer Translokation zwischen den Chromosomen 9 und 22 beruht, was zur Bildung des Fusionsgens BCR-ABL führt. Das ABL-Gen kodiert eine Tyrosinkinase, die wichtig für die



Schema 1.3: Schematische Darstellung der kompetitiven Inhibierung. In einem Katalysezyklus bindet das Substrat an die aktive Tasche des Enzymes und bildet den Enzym-Substrat-Komplex. Das Produkt wird freigesetzt. Bei der kompetitiven Inhibierung bindet der strukturell ähnliche Hemmstoff an die aktive Tasche und bildet den Enzym-Inhibitor-Komplex. Das Substrat kann nicht mehr umgesetzt werden.^[92]

Wachstumsregulation ist. Die Mutation dieses Gens hat eine Daueraktivierung der Kinase und damit eine unkontrollierte Vermehrung der Zelle zur Folge. Als Therapiemöglichkeit wird hierbei Imatinib verwendet, da es als kompetitiver und selektiver Inhibitor dieser Kinase durch die Besetzung der ATP-Bindetasche fungiert. Weil Krebszellen eine starke Abhängigkeit von der Kinase ABL zeigen, führt eine Inhibierung dieser zu einer deutlich beeinträchtigten Überlebensfähigkeit der Krebszellen.^[94]

Eine weitere Ansatzmöglichkeit für die Entwicklung selektiver Proteinkinase-Inhibitoren

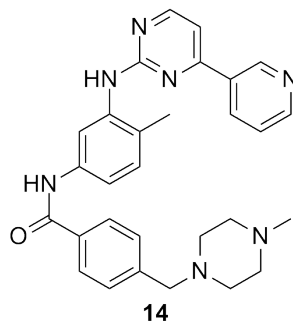


Abb. 1.10: Darstellung des Tyrosinkinase-Inhibitors Imatinib (**14**), auch bekannt als Krebsmedikament Glivec.

1.3. Proteinkinase-Inhibitoren als Behandlungsmöglichkeit gegen Krebs

wird von der Arbeitsgruppe MEGGERS verfolgt. Unter Verwendung von Staurosporin (**15**) als Leitstruktur (Abb. 1.11) werden stabile Metallkomplexe entwickelt, die in der ATP-Bindetasche binden können. Bei Staurosporin handelt es sich um einen Naturstoff, der zwar eine hohe Affinität, dafür aber eine geringe Selektivität zu Proteinkinasen besitzt.^[95,96]

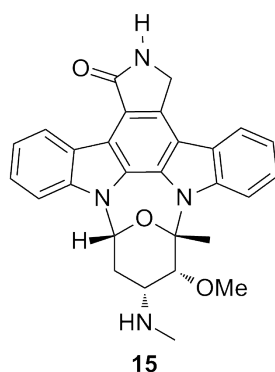


Abb. 1.11: Darstellung des Naturstoffes Staurosporin (**15**) als Leitstruktur für selektive Proteinkinase-Inhibitoren.

Die von MEGGERS *et al.* entwickelten Inhibitoren beruhen auf einem Pyridocarbazol-Liganden, der in der ATP-Bindetasche bindet, wobei dieser in der Adenintasche sitzt und bis zu zwei Wasserstoffbrückenbindungen zu der Scharnierregion ausbilden kann. Das Metall-Fragment mit zusätzlichen Liganden besetzt die Ribose- und die Phosphat-tasche. Durch die Modifizierung einzelner Liganden ist es so möglich, sehr selektive und potente Kinase-Inhibitoren darzustellen.^[97–105] Eine Auswahl solcher Verbindungen ist in Abb. 1.12 gezeigt. Zwar ist den drei Komplexen der Pyridocarbazol-Ligand sowie das Ruthenium-Zentrum gemeinsam, trotzdem führen Modifikationen einzähniger Li-ganden oder auch des Pyridocarbazol-Liganden zu einer unterschiedlichen Selektivität. Verbindung **16** ist ein selektiver Inhibitor für Pim1 ($IC_{50} = 0.075 \text{ nM}$ bei einer ATP-Konzentration von $100 \mu\text{M}$), wobei der monodentate CO-Ligand hierbei in die flexible glycinreiche Schleife zeigt. Der Carbonyl-Ligand beeinflusst signifikant die Bindungsei-genschaften und somit die Selektivität, wodurch ein Austausch dieser Einheit und einige zusätzliche Modifikationen am Pyridocarbazol-Gerüst die Selektivität komplett verän- dern. So ist Verbindung **17** mit einem Thiocyanat-Liganden ein potenter Inhibitor für DAPK1 ($IC_{50} = 2.0 \text{ nM}$ bei einer ATP-Konzentration von $100 \mu\text{M}$) mit einer 85-mal so

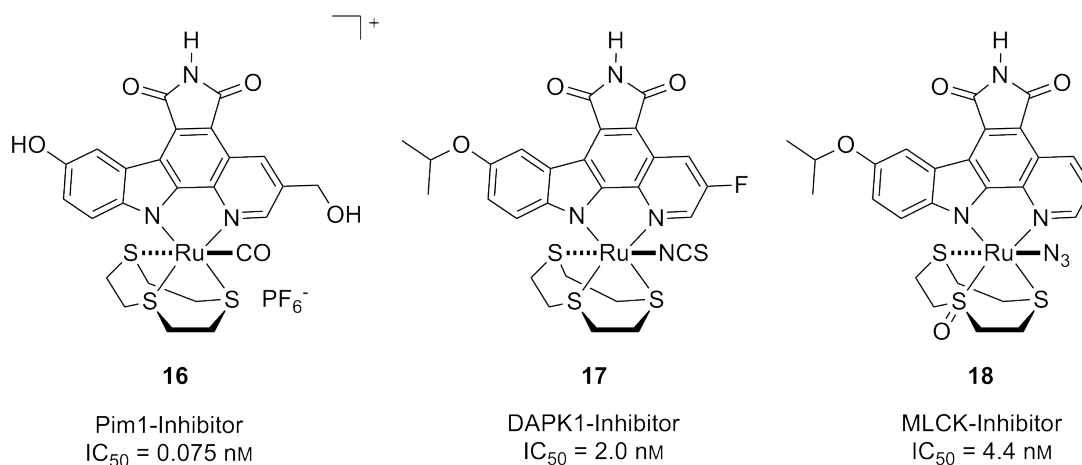


Abb. 1.12: Auswahl selektiver Proteinkinase-Inhibitoren auf Basis eines Pyridocarbazol-Ruthenium-Gerüsts. Die Komplexe liegen als Enantiomere vor. Die IC_{50} -Werte wurden bei einer ATP-Konzentration von $100 \mu\text{M}$ bestimmt.^[103]

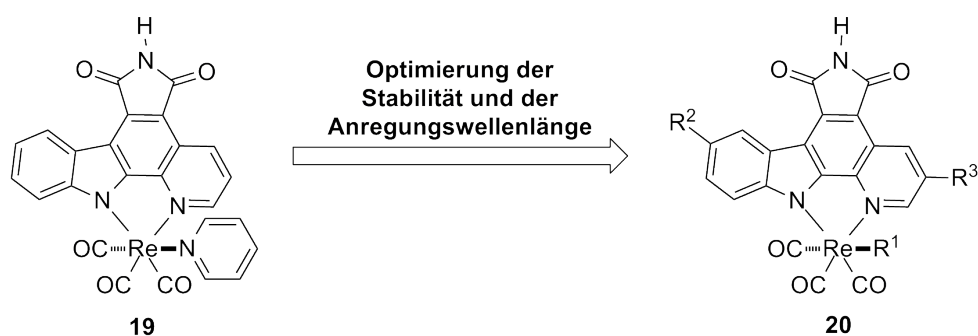
hohen Selektivität gegenüber Pim1. Wird **17** als Ausgangsverbindung verwendet und der monodentate Ligand ausgetauscht, der Fluor-Substituent entfernt und ein Thioether des dreizähnigen Liganden zum Sulfoxid oxidiert, ändert sich wiederum die Selektivität. In diesem Fall wird die Kinase MLCK ($IC_{50} = 4.4 \text{ nM}$ bei einer ATP-Konzentration von $100 \mu\text{M}$) mit einer 26-fachen Selektivität gegenüber DAPK1 inhibiert.^[103]

Trotz der bisherigen Erfolge in der Entwicklung selektiver Inhibitoren warten weitere Herausforderungen in diesem Forschungsgebiet, insbesondere in der Optimierung vorhandener Strukturen und der Darstellung komplett neuer Verbindungen für die Identifizierung weiterer Zielmoleküle.

2. Aufgabenstellung

Die Entwicklung neuer oder verbesserter Wirkstoffe ist für die biologische und medizinische Forschung von entscheidender Wichtigkeit. Über die letzten Jahre hat sich hierbei die Arbeitsgruppe MEGGERS auf die Synthese inerter, organometallischer Komplexe für die Verwendung in der chemischen Biologie fokussiert. Ein Aspekt lag dabei auf der Darstellung von Rhenium(I)-Verbindungen mit einem Pyridocarbazol-Liganden (z. B. Rhenium(I)-Verbindung **19**), welche nach Belichtung *in vivo* zytotoxische Eigenschaften aufweisen. Während diese Komplexe in der Dunkelheit in HeLa Krebszellen selbst bei einer Konzentration von 100 μM nur in 50 % der Zellen Apoptose auslösen, liegt der EC_{50} -Wert, d. h. der Wert, bei welchem 50 % der Zellen sterben, nach Belichtung mit sichtbarem Licht ($\lambda \geq 505 \text{ nm}$) bei einer Konzentration von 100 nM.^[106]

Diese Arbeit beschäftigt sich damit, herauszufinden, welcher Wirkmechanismus hinter den beobachteten photozytotoxischen Eigenschaften steckt. Des Weiteren sollen Stabilität und Anregungswellenlänge der Rhenium(I)-Verbindungen durch Modifikationen der einzelnen Liganden optimiert werden (Schema 2.1). Eine gewisse Stabilität der Komplexe in physiologischen Systemen muss gewährleistet sein, um denkbare Nebenreaktionen, z. B. den Austausch der Liganden, zu verhindern. Eine möglichst hohe Anregungswellenlänge der Verbindungen für eine optimale Gewebepenetration ist für deren Verwendung als Therapeutika in der photodynamischen Therapie wichtig.



Schema 2.1: Optimierung der Stabilität und der Anregungswellenlänge der Leitstruktur **19** durch Modifikation der einzelnen Substituenten R^1 , R^2 und R^3 .

Da der Pyridocarbazol-Ligand als bidentater Ligand die Bindung von ATP in Proteinkinasen nachahmt, wurden durch dessen Verwendung in der Arbeitsgruppe MEGGERS

eine Vielzahl an Metallkomplexen, basierend auf den Metallen Ruthenium, Rhodium oder Iridium, als selektive und potente Inhibitoren entwickelt.^[97–103] Die Untersuchung, ob diese Eigenschaften auf die Rhenium(I)-Komplexe übertragen werden können, ist ebenfalls Teil dieser Arbeit. Die Kombination sowohl der inhibitorischen als auch der photozytotoxischen Eigenschaften in einer einzigen Verbindung ist für die medizinische Forschung wünschenswert, weil dadurch neben dem photozytotoxischen Effekt weitere antiangiogenetische Eigenschaften auftreten können.^[107] Unter Antiangiogenese wird eine Methode verstanden, welche die Gefäßbildung bei Tumorerkrankungen eindämmt. Des Weiteren soll die Übertragbarkeit des Konzeptes auf andere Metallzentren, die in der Arbeitsgruppe Verwendung finden, geprüft werden.

Ein zweiter Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Darstellung von Ruthenium(II)-Verbindungen, die auf dem Grundgerüst eines Phenanthrolin-Liganden beruhen (Abb. 2.1). Im Gegensatz zum Pyridocarbazol-Liganden, dessen Synthese sehr aufwendig und kompliziert ist,^[108, 109] kann die Darstellung in wenigen Schritten und größeren Mengen erfolgen. Außerdem soll der Pharmakophor-Ligand in der ATP-Bindetasche binden und als kompetitiver Inhibitor neue Proteinkinasen adressieren, da bislang eine Präferenz für bestimmte Kinasen vorliegt. Die neuen Komplexe sollen durch CH-Aktivierung dargestellt und auf ihre inhibitorischen Eigenschaften untersucht werden.

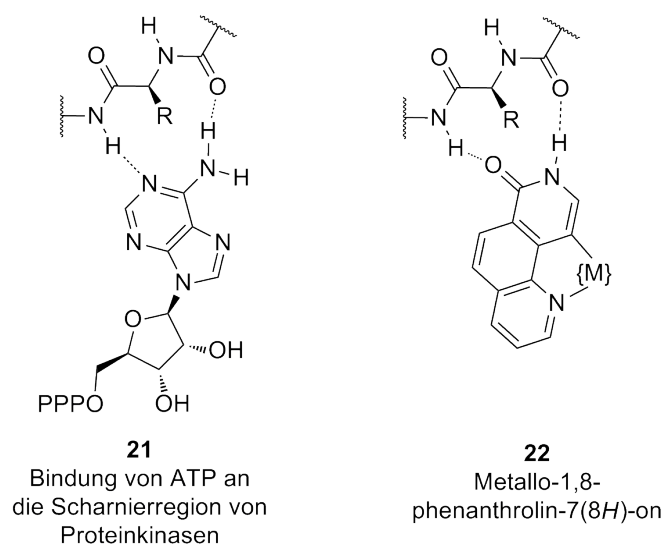


Abb. 2.1: Darstellung von Metallkomplexen auf Basis eines Phenanthrolin-Liganden (**22**) als ATP-kompetitive Inhibitoren.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

3.1.1. Zusammenfassung der bereits bekannten Ergebnisse

Dieses Kapitel umfasst eine kurze Zusammenfassung der bereits bekannten Ergebnisse, um den Zusammenhang zu weiteren Arbeiten herzustellen. Detaillierte Resultate können in den jeweiligen Doktorarbeiten nachgelesen werden.

Die Arbeitsgruppe MEGGERS beschäftigt sich u. a. mit der Darstellung photoaktiver Rhenium(I)-Verbindungen. In diesem Zusammenhang wurden von SANDRA DIECKMANN bereits eine Reihe von Verbindungen mit einem Indolat-Liganden synthetisiert (Abb. 3.1). Biologische Arbeiten wurden, soweit nicht anders angegeben, von ANJA LUDEWIG durchgeführt.

Im Gegensatz zu dem bereits in der Literatur beschriebenen Bipyridin-Komplex **23**, der durch seine lumineszierenden Fähigkeiten in der biologischen Bildgebung eingesetzt wird,^[110,111] besitzen Verbindungen **19**, **24** und **25** durch den Austausch des bidentaten Liganden andere chemische und biologische Eigenschaften. Die Modifikation führt zwar zu einem Verlust der Lumineszenz, dafür können die Rhenium(I)-Komplexe in Krebszellen durch Belichtung aktiviert werden.

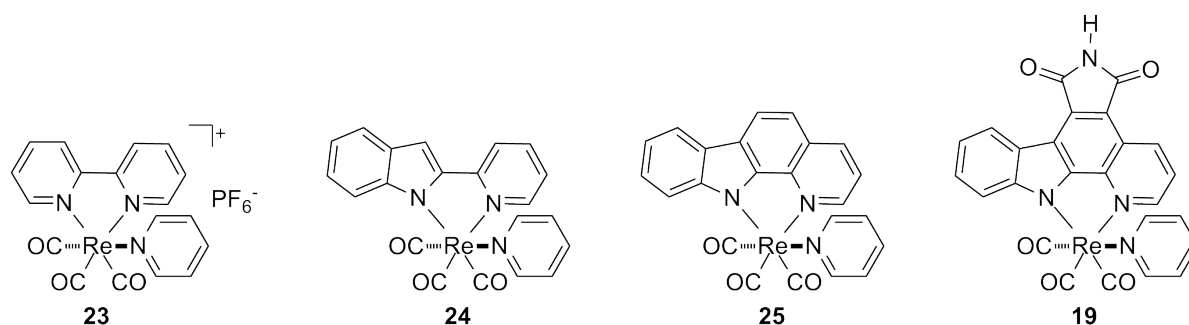


Abb. 3.1: Überblick über die bereits von SANDRA DIECKMANN dargestellten Rhenium(I)-Verbindungen **19** und **23–25**.^[106]

Während Rhenium(I)-Komplex **19** keine Zytotoxizität in der Dunkelheit mit einem EC₅₀-Wert von 100 μ M aufwies, sank dieser Wert drastisch nach Belichtung. Beim EC₅₀-Wert handelt es sich um die mittlere, effektive Konzentration, bei welchem 50 % der Zellen

überleben. Nach Belichtung mit sichtbarem Licht ($\lambda \geq 505$ nm) lag der Wert bei 100 nM, was eine Verbesserung um drei Größenordnungen darstellte (Abb. 3.2). Dieser Effekt beruht auf der einleitenden Apoptose in den Zellen während der Belichtung, was durch die Aktivierung der Caspasen 3 und 7 festgestellt wurde. Außerdem konnte eine erhöhte Anzahl an Zellen, die sich in der Sub-G₁ Phase befanden, nachgewiesen werden.^[112]

Der schrittweise Aufbau des Pyridocarbazol-Liganden von Komplex **25** zu **19** verschiebt die Absorptionsbanden in den längerwelligen Bereich, was zu einer wellenlängenabhängigen, antiproliferativen Aktivität führt (Abb. 3.3). So induzierten Komplexe **24** und **25** den Zelltod nach Belichtung mit UV- ($\lambda \geq 330$ nm) oder blauem Licht ($\lambda \geq 415$ nm). Verbindung **19** löste in den Zellen sogar Apoptose nach Belichtung mit grünem Licht ($\lambda \geq 505$ nm) aus, was in der Phototherapie aufgrund einer tieferen Eindringtiefe in den Tumor gewünscht ist. Obwohl Bipyridin-Verbindung **23** ein Absorptionsmaximum von $\lambda = 323$ nm besitzt, zeigte sie keine photozytotoxischen Eigenschaften. Im Rahmen dieser Arbeit wurde geklärt, auf welchen Eigenschaften die Photozytotoxizität beruht und wie

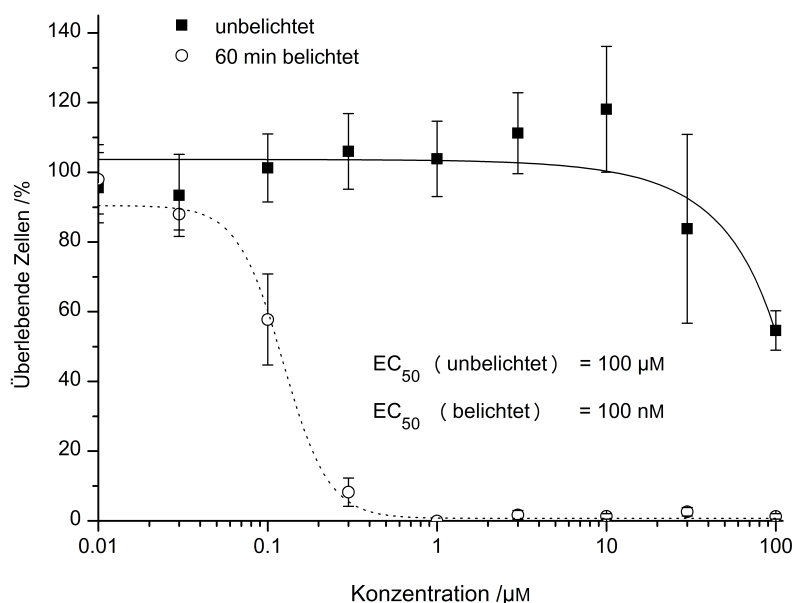


Abb. 3.2: Lichtinduzierte, antiproliferative Aktivität des Rhenium(I)-Komplexes **19** in HeLa Zellen. Experimentelle Angaben: Eine Stunde nach Zugabe der Verbindung wurden die Zellen mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe für 60 Minuten bei einer Wellenlänge von $\lambda \geq 505$ nm belichtet. Die Zytotoxizität wurde nach weiteren 22 Stunden mittels MTT-Viabilitätsassay bestimmt. Die Standardabweichungen beruhen auf zwei unabhängigen Messungen mit insgesamt 18 Messpunkten für jede Konzentration.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

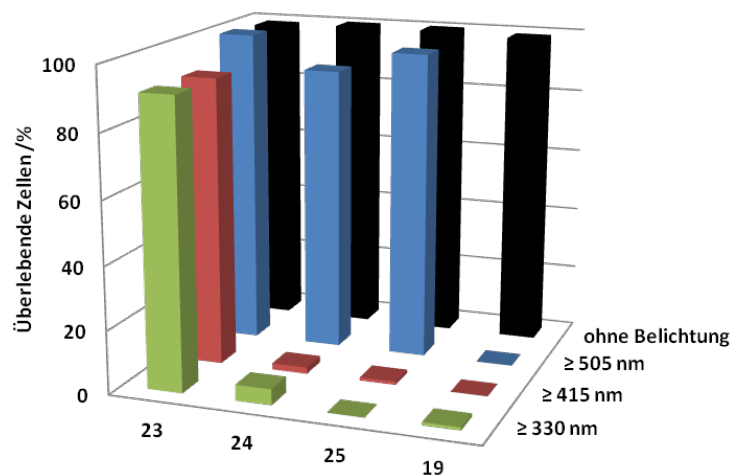


Abb. 3.3: Wellenlängenabhängige Photozytotoxizität der Rhenium(I)-Komplexe **19** und **23–25** in HeLa Zellen. Die Komplexe ($1\ \mu\text{M}$) wurden für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe unter Verwendung verschiedener Filter belichtet (15 Minuten bei $\lambda \geq 330\text{ nm}$, 60 Minuten bei $\lambda \geq 415\text{ nm}$ und $\lambda \geq 505\text{ nm}$). Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

der Unterschied zwischen dem geladenen Bipyridin-Komplex **23** und den ungeladenen Verbindungen zustande kommt. Des Weiteren wurde geprüft, ob eine weitere Verschiebung des Absorptionsmaximums durch Modifikationen des Pyridocarbazol-Liganden möglich ist.

3.1.2. Bestimmung der Singulett-Sauerstoff-Produktion der Rhenium(I)-Komplexe

Die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) könnte eine Erklärung für die photozytotoxischen Eigenschaften der gezeigten Rhenium(I)-Komplexe sein. Der dadurch in den Zellen generierte oxidative Stress hat Auswirkungen auf den Zellmetabolismus, den Zellzyklus oder die Zellproliferation.^[113] Es gibt viele Möglichkeiten die Generierung von ROS nachzuweisen, hier soll sich allerdings auf eine Methode, beruhend auf den Arbeiten von KRALJIĆ *et al.* aus dem Jahr 1965, beschränkt werden.^[114]

Dieser Nachweis beruht auf einem *in vitro*-System unter Verwendung des redoxsensitiven Farbstoffes *para*-Nitrosodimethylanilin (**26**, RNO). Er bietet die Vorteile, dass er in wässrigen Systemen funktioniert, RNO einen großen Extinktionskoeffizienten besitzt und der Farbstoff relativ günstig erworben werden kann. Außerdem ist hierbei eine Unterscheidung

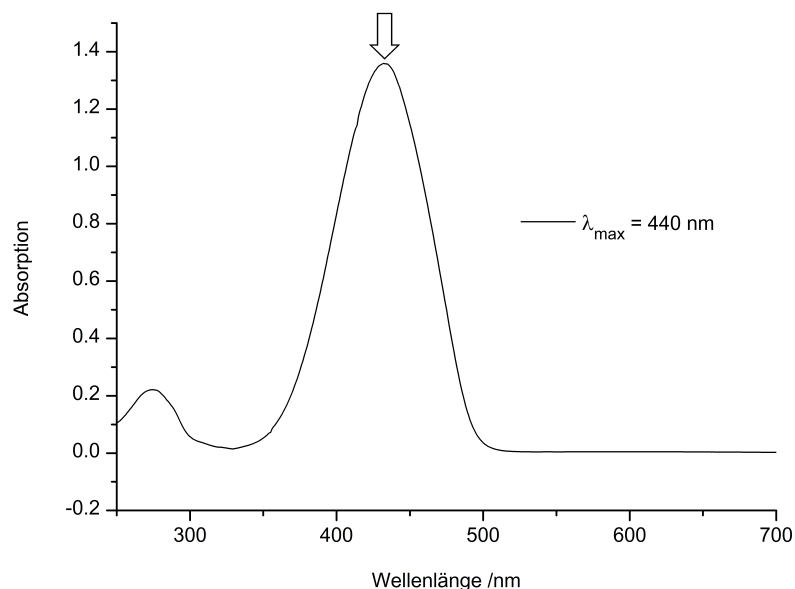
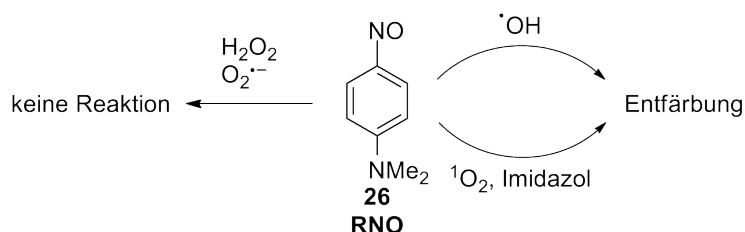


Abb. 3.4: Absorptionsspektrum des Farbstoffes *para*-Nitrosodimethylanilin (**26**, 50 μM) in PBS/DMSO 1:1. Nach Reaktion von RNO mit einer reaktiven Sauerstoffspezies kann eine Abnahme der Intensität des Absorptionsmaximums bei 440 nm beobachtet werden.

der verschiedenen reaktiven Sauerstoffspezies möglich. Dem Assay liegt die Entfärbung des Farbstoffes, die auf der Abnahme der Intensität der Absorptionsbande bei 440 nm gründet, zugrunde (Abb. 3.4).^[115]

RNO (**26**) reagiert mit stark oxidierenden Spezies, wie Hydroxylradikalen, nicht aber mit Singulett-Sauerstoff, Superoxid-Anionen oder schwach oxidierenden Verbindungen, wie Wasserstoffperoxid. Durch Zusatz von Imidazol allerdings findet in Anwesenheit von $^1\text{O}_2$ eine Bildung von Endoperoxiden statt, welche aufgrund ihres größeren Redoxpotentials mit RNO umgesetzt werden können (Schema 3.1).

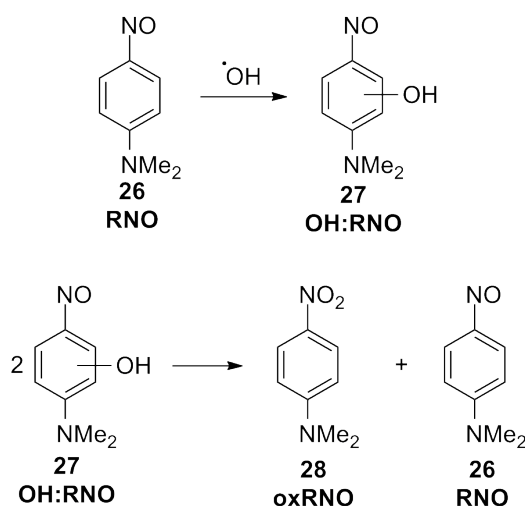


Schema 3.1: RNO (**26**) reagiert mit Hydroxylradikalen unter Entfärbung. Eine Oxidation des Farbstoffes findet ebenfalls nach Zugabe von Imidazol mit Singulett-Sauerstoff statt. Mit schwachen Oxidationsmitteln, wie Wasserstoffperoxid oder Superoxid-Anionen, ist keine Reaktion zu beobachten.

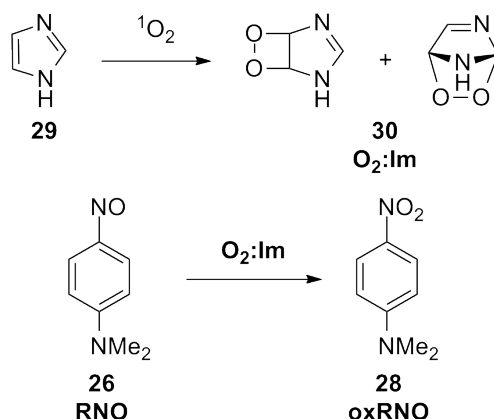
3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

Hydroxylradikale sorgen, wie bereits erwähnt, für eine Entfärbung des Farbstoffes basierend auf der Abnahme der Intensität der Absorptionsbande bei 440 nm. Die Abnahme verläuft dabei linear zur Konzentration, weshalb eine quantitative Aussage über die Konzentration der Radikale möglich ist. Die Reaktion beruht auf zwei Schritten, wobei der erste diffusionskontrolliert abläuft. Es findet eine Addition der Hydroxylradikale an das aromatische System von RNO statt (**27**). Im Anschluss reagiert das Additionsprodukt in einer Reaktion 2. Ordnung unter Bildung des entfärbten Oxidationsproduktes **oxRNO** (**28**, Schema 3.2).^[116]

Für den Nachweis von Singulett-Sauerstoff ist ein Zusatz von Imidazol (**29**) notwendig, da $^1\text{O}_2$ im wässrigen Medium eine sehr geringe Halbwertszeit hat und sehr reaktiv ist. Eine Reaktion mit *para*-Nitrosodimethylanilin (**26**) findet allerdings nicht statt. Erst durch den Zusatz von Imidazol oder seinen Analoga, wie Histidin, ist eine Reaktion möglich. Singulett-Sauerstoff bildet dabei durch Cycloaddition mit Imidazol verschiedene Endoperoxide (**30**, **O₂:Im**), die eine deutlich längere Halbwertszeit besitzen (Schema 3.3). Durch ihr größeres Redoxpotential können sie in einem zweiten Reaktionsschritt RNO diffusionskontrolliert oxidieren, was ebenfalls durch eine Entfärbung gemessen werden kann.^[115] Eine Reaktion mit schwachen Oxidationsmitteln, wie Wasserstoffperoxid, oder Superoxid-Anionen mit RNO funktioniert nicht.^[117]



Schema 3.2: Ablaufende Reaktionen von RNO (**26**) mit Hydroxylradikalen. Zunächst addieren diffusionskontrolliert die Hydroxylradikale an RNO, Produkt **27** reagiert im Anschluss zum oxidierten RNO (**28**).



Schema 3.3: Ablaufende Reaktionen von RNO (**26**) mit Singulett-Sauerstoff. Zunächst reagiert ${}^1\text{O}_2$ mit Imidazol (**29**) unter Bildung verschiedener Endoperoxide (**30**). Diese Endoperoxide oxidieren wiederum die Nitrosogruppe von RNO (**28**).

Während eines Vertiefungspraktikums von TIMO VÖLKER wurde die Nachweismethode generell auf ihre Funktionsweise getestet.^[118] In weiteren Arbeiten wurden die Ergebnisse auf die Durchführung in einer 96-Lochplatte übertragen, da so eine größere Anzahl an Proben zeitgleich gemessen werden konnte. Außerdem war eine geringere Probenmenge nötig.

Für den Assay wurde ein Lösungsmittelgemisch aus PBS-Puffer und DMSO (1:1) verwendet, weil in biologischen Systemen Wasser als Lösungsmittel genutzt wird. Um eine ausreichende Löslichkeit der Rhenium(I)-Verbindungen zu gewährleisten, wurde DMSO hinzugefügt. Zunächst wurde das von KRALJIĆ entwickelte System auf seine generelle Funktionalität getestet.

Hierbei ist ein Nachweis für Hydroxylradikale möglich, indem Wasserstoffperoxid zur Reaktionslösung hinzugegeben wird, da unter UV-Belichtung die Radikale freigesetzt werden. Diese sorgten nach Belichtung von 30 Minuten ($\lambda \geq 270 \text{ nm}$) für eine Entfärbung von RNO (Abb. 3.5). Ohne Zusatz von Wasserstoffperoxid zur Reaktionslösung wurde nahezu keine Entfärbung des Farbstoffes erkannt. Außerdem wurde gezeigt, dass in Gegenwart von Wasserstoffperoxid in der Dunkelheit keine Reaktion stattfand. Das Testsystem eignet sich somit für den Nachweis von Hydroxylradikalen, eine Reaktion mit Wasserstoffperoxid konnte nicht beobachtet werden.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

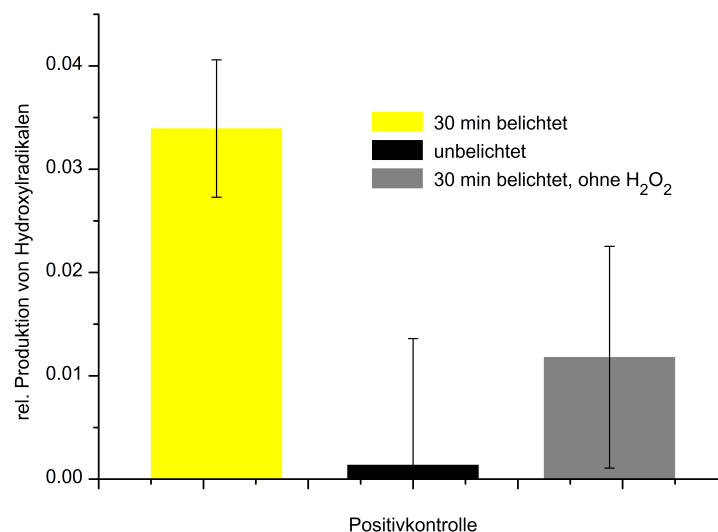


Abb. 3.5: Produktion von Hydroxylradikalen in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ.^[114] Es wurden der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50\ \mu\text{M}$) in Gegenwart von Wasserstoffperoxid ($1\ \text{mM}$) ohne Belichtung und nach Belichtung von 30 Minuten ($\lambda \geq 270\ \text{nm}$) mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten.

Des Weiteren wurde die Generierung von Singulett-Sauerstoff für das Testsystem überprüft. Dafür wurde der organische Farbstoff Methylenblau verwendet, der Licht der Wellenlänge 530–700 nm absorbiert und ein bekannter Photosensibilisator ist.^[115] Dieser kann nach Photoabsorption Sauerstoff in den aktiven Zustand anregen und so effektiv $^1\text{O}_2$ erzeugen. Unter Zusatz von Imidazol wurde das Reaktionsgemisch für 30 Minuten belichtet ($\lambda \geq 505\ \text{nm}$), was zu einer Entfärbung des Farbstoffes führte (Abb. 3.6). Ohne Belichtung konnte keine Bildung reaktiver Sauerstoffspezies festgestellt werden. Außerdem fand ohne den Zusatz von Imidazol keine Reaktion statt, weshalb eine Generierung von Hydroxylradikalen ausgeschlossen wurde. Ohne Methylenblau konnte auch keine Reaktion nachgewiesen werden. Die gezeigte Entfärbung musste demnach auf der Generierung von Singulett-Sauerstoff beruhen. Das Testsystem eignet sich daher für den Nachweis reaktiver Sauerstoffspezies.

Da sich das Testsystem sowohl für den Nachweis von Hydroxylradikalen als auch von Singulett-Sauerstoff eignet, wurde zunächst überprüft, ob die photozytotoxischen Eigenschaften von Rhenium(I)-Komplex **19** auf der Generierung reaktiver Sauerstoffspezies beruhen. Es wurde festgestellt, dass eine Belichtung der Reaktionslösung zu einer Entfärbung

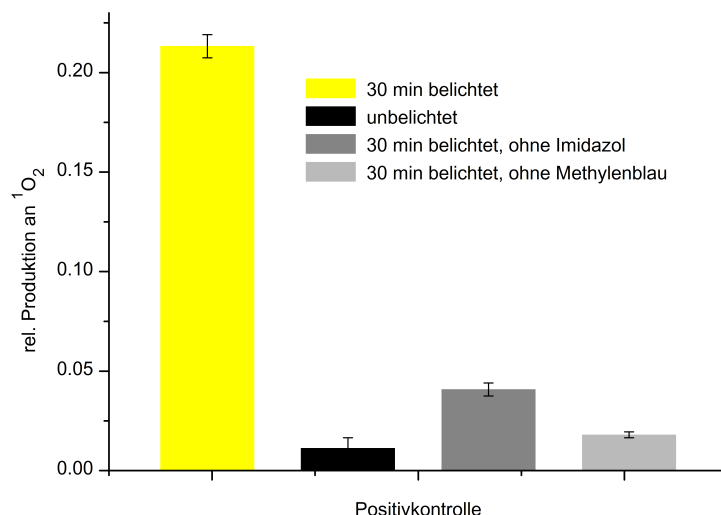


Abb. 3.6: Singulett-Sauerstoff-Produktion von Methylenblau ($10\ \mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurden der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50\ \mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol ($8\ \text{mM}$) ohne Belichtung und nach Belichtung von 30 Minuten ($\lambda \geq 505\ \text{nm}$) mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten.

des Farbstoffes führte (Abb. 3.7). Ohne Belichtung konnte keine Veränderung festgestellt werden. Wurde Imidazol nicht zum Reaktionsgemisch hinzugefügt, war ebenfalls keine Abnahme der Absorption beobachtbar, woraus geschlossen wurde, dass die Entfärbung auf einer Produktion von Singulett-Sauerstoff beruhte und keine Hydroxylradikale gebildet wurden. Diese These wurde dadurch unterstützt, dass die Generierung durch den Zusatz von Natriumazid, einem effektiven Quencher von $^1\text{O}_2$, verhindert wurde.^[119] Somit ließ sich feststellen, dass die photozytotoxischen Eigenschaften der Rhenium(I)-Komplexe auf der Produktion von Singulett-Sauerstoff beruhen.

Mit diesem Wissen wurden die bereits von SANDRA DIECKMANN dargestellten Rhenium(I)-Komplexe auf ihre wellenlängenabhängige Photozytotoxizität untersucht. Es wurde festgestellt, dass ein Sterben der Zellen auf die Eigenschaft der Singulett-Sauerstoff-Produktion zurückgeführt werden kann (Abb. 3.8). Während Verbindungen **24** und **25** mit Pyridylindol-Ligand bei Wellenlängen von $\lambda \geq 330\ \text{nm}$ und $\lambda \geq 415\ \text{nm}$ $^1\text{O}_2$ generierten, was zum Einleiten der Apoptose führte (vgl. Abb. 3.3), konnte eine solche Produktion bei $\lambda \geq 505\ \text{nm}$ und damit verbundenes Zellsterben nur noch für Komplex **19** beobachtet werden. Dies hängt mit den Absorptionsmaxima der einzelnen Verbindungen zusammen

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

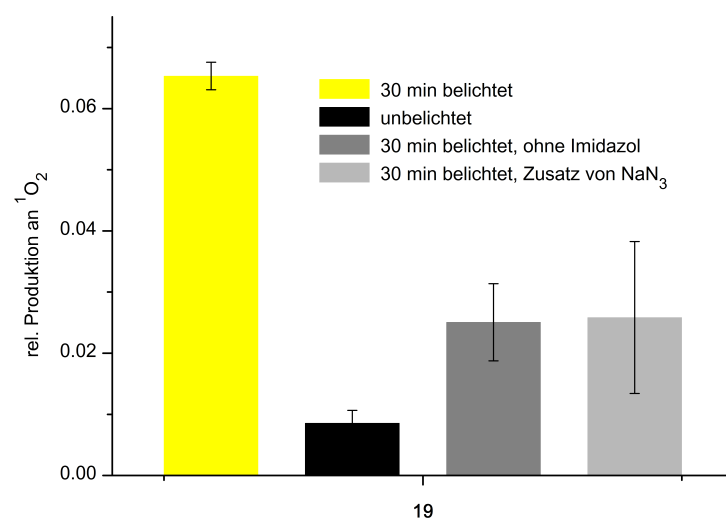


Abb. 3.7: Singulett-Sauerstoff-Produktion von Rhenium(I)-Verbindung **19** ($50 \mu M$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurden der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50 \mu M$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung von 30 Minuten mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten.

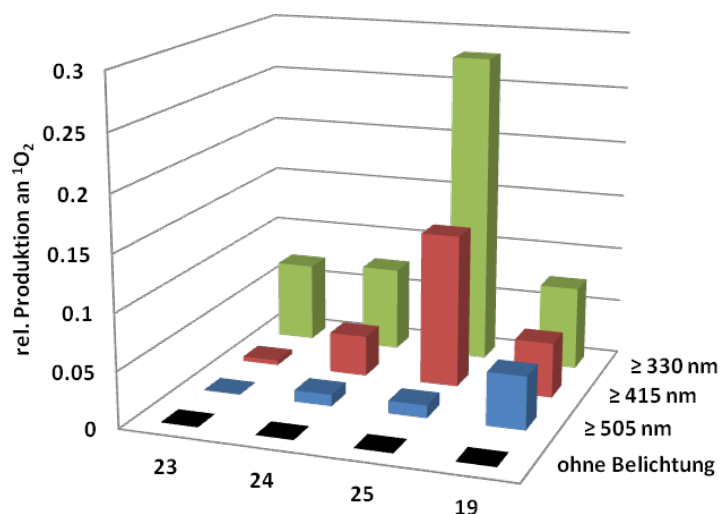


Abb. 3.8: Singulett-Sauerstoff-Produktion der Rhenium(I)-Komplexe **19** und **23–25** ($50 \mu M$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurden der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50 \mu M$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung von 30 Minuten mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe unter Benutzung verschiedener Filter verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten.

(vgl. Doktorarbeit SANDRA DIECKMANN). Während **24** und **25** bei hohen Wellenlängen ($\lambda \geq 505$ nm) kein Licht mehr absorbieren können, besitzt **19** ein Absorptionsmaximum von 512 nm. Interessanterweise produzierte auch der Bipyridin-Komplex **23** bei $\lambda \geq 330$ nm Singulett-Sauerstoff, zeigte aber keine photozytotoxischen Eigenschaften. Dies kann auf die Lokalisierung der Verbindungen innerhalb der Zelle zurückgeführt werden, soll aber in späteren Kapiteln genauer betrachtet werden.

3.1.3. Optimierung der Stabilität der Rhenium(I)-Komplexe

Für die Verwendung von metallorganischen Verbindungen in biologischen Systemen müssen diese eine gewisse Stabilität in polaren Lösungsmitteln aufweisen, da die Komplexe als DMSO-Stammlösungen gelagert werden. Außerdem dauern biologische Experimente oft mehrere Stunden und Tage, was durch fehlende Stabilität zu unerwünschten Nebenreaktionen führen könnte. Aus diesen Gründen wurden für Rhenium(I)-Komplex **19** von SANDRA DIECKMANN bereits Stabilitätsmessungen durchgeführt. Zum einen wurde dabei auf die Langzeit-Stabilität in polaren Lösungsmitteln und zum anderen auf die Stabilität während der Belichtung eingegangen, um lichtinduzierte Nebenreaktionen ausschließen zu können.

Die Langzeit-Stabilität von **19** wurde durch ^1H -NMR-Spektroskopie in $\text{DMSO-}d_6$ über 100 Stunden beobachtet. Dabei konnte festgestellt werden, dass über einen gewissen Zeitraum neue Signale im Spektrum auftraten. Nach 100 Stunden waren bereits 25 % dieses Zerfallsproduktes gebildet. In weiteren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass es sich hierbei um einen Austausch des monodentaten Pyridin-Liganden handelte. Durch Belichtung der Probe konnte ebenfalls ein Austausch des Liganden beobachtet werden.^[106]

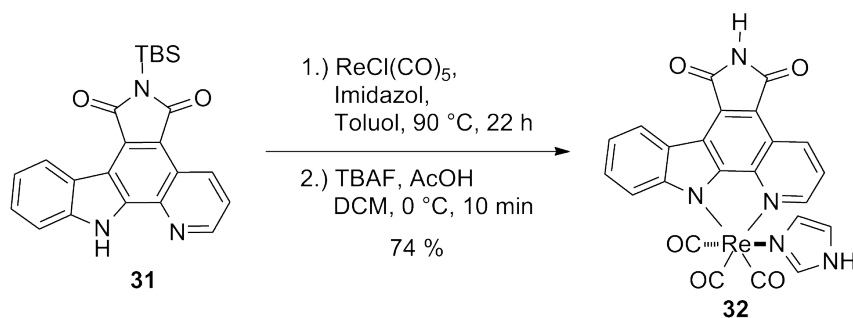
Aus diesem Grund wurden weitere Rhenium(I)-Verbindungen synthetisiert, in denen der Pyridin-Ligand durch einen anderen Liganden ersetzt wurde. Hierbei konnte SANDRA DIECKMANN bereits zeigen, dass der elektronenreichere Ligand 4-Dimethylaminopyridin eine deutlich höhere Stabilität besitzt, die Substitution allerdings eine Verringerung der photozytotoxischen Eigenschaften zur Folge hat.^[106] Eine Ursache für die geringere Photozytotoxizität könnte die Größe von 4-Dimethylaminopyridin sein, da dieser Ligand sterisch anspruchsvoller als Pyridin ist und so eventuell eine andere Lokalisierung in der Zelle hat.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

Daher bietet sich Imidazol als monodentater Ligand an, da dieser Aromat ebenfalls sehr elektronenreich ist, aber eine geringere Größe als 4-Dimethylaminopyridin besitzt.

Zwischen dem Rhenium(I)-Zentrum und dem Stickstoff-Liganden wird eine σ -Donor- π -Akzeptorbindung gebildet.^[120] Da Rhenium in der Oxidationsstufe +1 vorliegt und somit eine relativ hohe Elektronendichte am Metallzentrum vorhanden ist, kann das Metall durch eine π -Akzeptorbindung Elektronendichte an den Liganden abgeben. Die erhöhte Stabilität ist allerdings auf die σ -Donorbindung, ausgehend von Imidazol, zurückzuführen, die aufgrund der größeren Elektronendichte von Imidazol im Gegensatz zu Pyridin stärker ausgeprägt ist.

Die Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes erfolgte nach einer von SANDRA DIECKMANN entwickelten Methode. Zunächst wurde dafür Pyridocarbazol-Ligand **31** durch eine in der Arbeitsgruppe MEGGERS optimierte Route synthetisiert.^[109] Im Anschluss wurden **31**, der Rhenium(I)-Vorläufer $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ und Imidazol in Toluol suspendiert und über Nacht erhitzt (Schema 3.4). Der entstandene Komplex wurde ohne vorherige Reinigung direkt mit Tetrabutylammoniumfluorid entschützt, so dass durch anschließende säulenchromatographische Reinigung Rhenium(I)-Komplex **32** als racemisches Gemisch mit einer Ausbeute von 74 % erhalten wurde.



Schema 3.4: Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **32**.

Um zu überprüfen, ob der Austausch des monodentaten Liganden einen Einfluss auf die photozytotoxischen Eigenschaften der Rhenium(I)-Komplexe hat, wurde zunächst das Absorptionsspektrum von Verbindung **32** bestimmt (Abb. 3.9). Mit einem Absorptionsmaximum von $\lambda = 513 \text{ nm}$ ist es nahezu identisch zu Komplex **19** mit Pyridin-Ligand. Der monodentate Ligand trägt demnach nur in vernachlässigbarem Rahmen zur Verschiebung des Absorptionsspektrums bei.

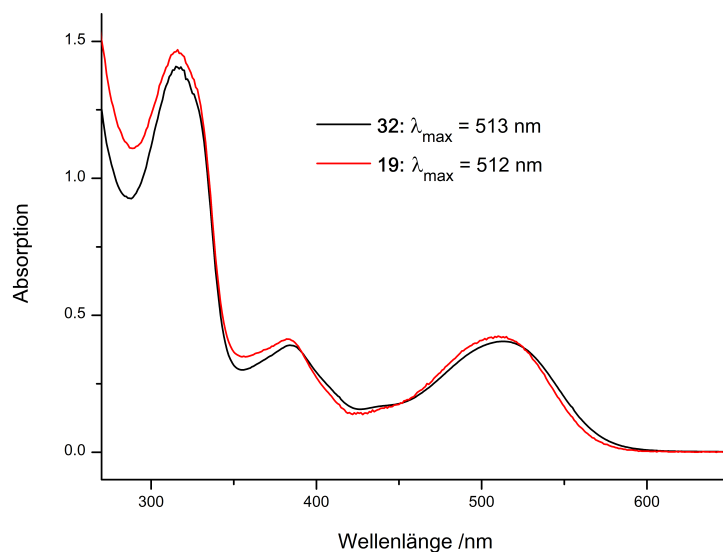


Abb. 3.9: Absorptionsspektrum des Rhenium(I)-Komplexes **32** ($60\ \mu\text{M}$) in DMSO im Vergleich zu Verbindung **19** im Bereich 270–650 nm.

Des Weiteren wurde die Imidazol-Verbindung auf ihre Fähigkeit der Singulett-Sauerstoff-Produktion unter den bereits erläuterten Bedingungen geprüft. Nach einer Belichtung der Probe von 30 Minuten konnte eine Generierung von $^1\text{O}_2$ nachgewiesen werden, während in der Dunkelheit keine Reaktion stattfand (Abb. 3.10). Eine Übertragbarkeit dieses Ergebnisses auf die Zytotoxizität in HeLa Zellen konnte ebenfalls gezeigt werden. Nach Belichtung von 60 Minuten lag das Zellüberleben bei $< 1\%$, im Dunkeln bei nahezu 100% . Ein Unterschied zu Verbindung **19** konnte daher nicht beobachtet werden, weshalb davon ausgegangen wird, dass innerhalb der Zelle die gleichen Prozesse durch die Singulett-Sauerstoff-Produktion initiiert werden. Der Austausch des monodentaten Liganden hat demnach keinen Einfluss auf die photozytotoxischen Eigenschaften.

Wie bereits erwähnt, sollte Rhenium(I)-Verbindung **32** aufgrund der elektronenschiebenden Eigenschaften des Imidazol-Liganden eine höhere Stabilität gegenüber der Pyridin-Verbindung aufweisen. Aus diesem Grund wurde die Stabilität des Komplexes in $\text{DMSO-}d_6/\text{D}_2\text{O}$ (9:1) unter Zugabe von 2-Mercaptoethanol mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie untersucht (Abb. 3.11). Die Zugabe des Thiols erfolgte, um mögliche Reaktionen mit in der Zelle vorhandenen Thiolen zu simulieren. Selbst nach 192 Stunden trat keine Änderung innerhalb der Spektren auf, d. h. eine Dissoziation des monodentaten Liganden fand nicht statt. **32** ist demnach unter den getesteten Bedingungen stabil.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

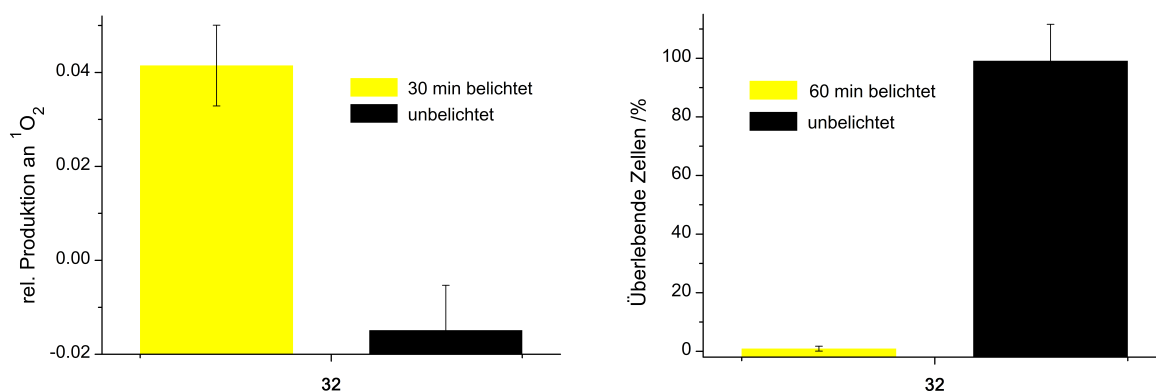


Abb. 3.10: Links: Singulett-Sauerstoff-Produktion des Rhenium(I)-Komplexes **32** ($50 \mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50 \mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung ($\lambda \geq 505 \text{ nm}$) von 30 Minuten mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten. Rechts: Photozytotoxizität des Rhenium(I)-Komplexes **32** in HeLa Zellen. Der Komplex ($1 \mu\text{M}$) wurde für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe 60 Minuten belichtet ($\lambda \geq 505 \text{ nm}$). Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindung bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

Um eine Dissoziation des Liganden durch den Einfluss von Licht ausschließen zu können, wurde ebenfalls die Stabilität unter Belichtung untersucht. Dazu wurde eine Probe des Komplexes unter Zugabe von 1-Methylimidazol in DMSO- d_6 gelöst und für vier Stunden belichtet (Abb. 3.12). Die Zugabe von 1-Methylimidazol erfolgte, da dieser Aromat noch elektronenreicher als Imidazol ist und so stabilere Komplexe bilden sollte. Anhand der ^1H -NMR-Spektren vor und nach Belichtung konnte ein Austausch von Imidazol mit dem Lösungsmittel oder 1-Methylimidazol ausgeschlossen werden. Durch die Ergebnisse der NMR-Experimente wurde zusätzlich das Resultat, dass die photozytotoxischen Eigenschaften auf der Generierung von Singulett-Sauerstoff beruhen, bekräftigt, weil eine Photodissoziation unter Bildung reaktiver Spezies nicht stattfand. Eine Optimierung der Stabilität der Rhenium(I)-Komplexe konnte somit erfolgreich durchgeführt werden.

Neben Rhenium(I)-Komplex **32** wurden weitere Derivate mit einem Imidazol-Liganden dargestellt. Durch Modifizierung der Maleimid-Einheit des Pyridocarbazol-Liganden wurden sowohl die Methyl- als auch die Benzyl-geschützte Verbindung erhalten (Schema 3.5).

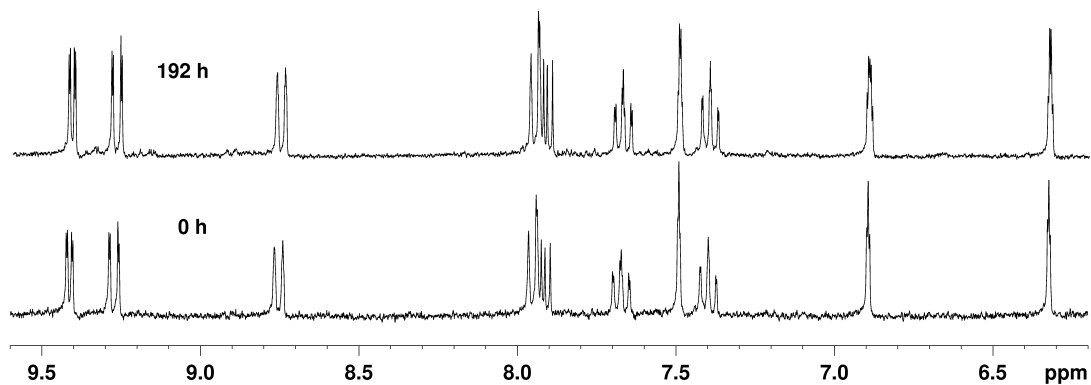


Abb. 3.11: Stabilitätstest des Rhenium(I)-Komplexes **32** (5 mM) nach Zugabe von 2-Mercaptoethanol (5 mM) in DMSO- d_6 /D₂O (9:1). Anhand der ¹H-NMR-Spektren kann erkannt werden, dass selbst nach 192 Stunden keine Veränderung aufgetreten ist, was bedeutet, dass der Komplex stabil ist.

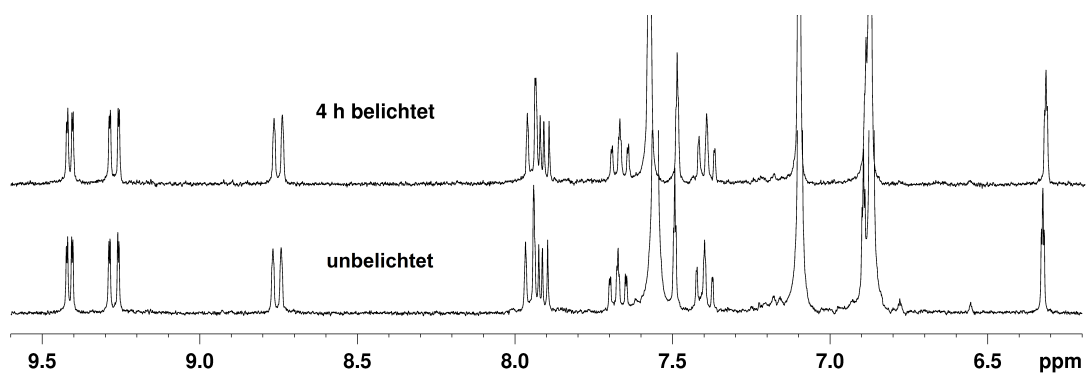
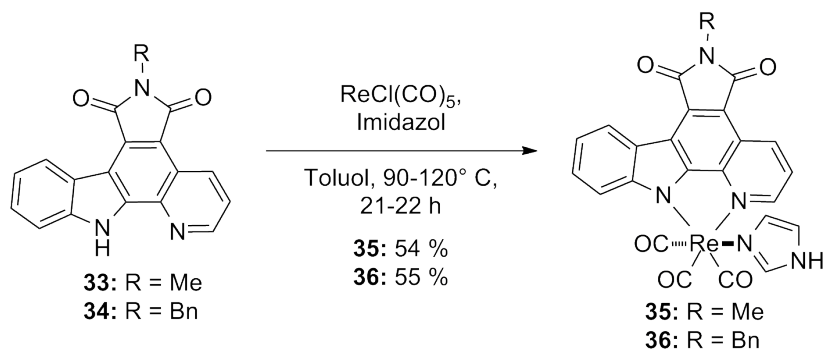


Abb. 3.12: Stabilitätstest des Rhenium(I)-Komplexes **32** (5 mM) nach Zugabe von 1-Methylimidazol (10.0 eq) in DMSO- d_6 . Selbst nach einer Belichtung von vier Stunden mit einem LED Reflektor sind keine Änderungen in den ¹H-NMR-Spektren zu erkennen.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie



Schema 3.5: Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe **35** und **36**.

Dies sollte klären, ob die Inhibierung von Proteinkinasen im Zusammenhang mit den photozytotoxischen Eigenschaften steht. In vielen Arbeiten der Arbeitsgruppe MEGGERS wurde bereits gezeigt, dass die Verwendung eines Pyridocarbazol-Liganden für die Darstellung von Metallkomplexen zu sehr selektiven und potenten Inhibitoren führt. Die Maleimid-Einheit bildet dabei bis zu zwei Wasserstoffbrückenbindungen zu der Scharnierregion der aktiven Tasche der Kinase aus.^[99, 103, 109, 121] Durch das Einführen einer Schutzgruppe ist diese Wechselwirkung nicht mehr möglich. Ob eine Inhibierung von Proteinkinasen für das Einleiten von Apoptose mitverantwortlich ist, konnte in der Doktorarbeit von SANDRA DIECKMANN nicht vollständig geklärt werden.

Aus diesem Grund wurden Verbindungen **35** und **36** auf ihre Fähigkeit, Singulett-Sauerstoff zu produzieren, untersucht. Hierbei wurde festgestellt, dass eine Modifikation an dieser Position des Pyridocarbazol-Liganden keinen Einfluss auf die Generierung von $^1\text{O}_2$ hat. Auch die Zellüberlebensrate, die mittels MTT-Viabilitätsassay bestimmt wurde, zeigte, dass eine Inhibierung von Proteinkinasen für die photozytotoxischen Eigenschaften keine Rolle spielt (Tab. 3.1). Die hohe Standardabweichung der Ergebnisse von **36** kann auf Löslichkeitsprobleme während des Assays zurückgeführt werden.

Die Kristallstrukturanalyse von Komplex **36** zeigt, dass der Imidazol-Ligand *trans* zu einem CO-Liganden und *cis* zum Pyridocarbazol-Liganden steht (Abb. 3.13). Der Pyridocarbazol-Ligand steht außerdem *trans* zu den weiteren Carbonyl-Liganden. Die detektierten Bindungslängen, wie z. B. $\text{Re1-N1} = 2.215(3) \text{ \AA}$ oder $\text{Re1-C35} = 1.919(5) \text{ \AA}$, sind vergleichbar mit anderen Rhenium(I)-Komplexen.^[122] Der Komplex bildet ein leicht verzerrtes Oktaeder, mit ausgewählten Bindungswinkeln von $\text{C35-Re1-N28} = 175.83(15)^\circ$

Tab. 3.1: Photozytotoxizität der Rhenium(I)-Komplexe **35** und **36** in HeLa Zellen. Die Komplexe ($1\ \mu\text{M}$) wurden für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe 60 Minuten belichtet ($\lambda \geq 505\ \text{nm}$). Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

Verbindung	Überlebensrate _{unbelichtet} /%	Überlebensrate _{belichtet} /%
35	102.8 ± 9.1	0.6 ± 0.8
36	102.5 ± 9.4	16.4 ± 14.5

und $\text{C35-Re1-C34} = 88.45(17)^\circ$.

Neben stickstoffhaltigen Verbindungen, wie Imidazol oder Pyridin, eignen sich auch Phosphine aufgrund ihrer Möglichkeit zur Ausbildung von σ -Donor- π -Akzeptorbindungen als monodentate Liganden in der Komplexchemie.^[120] Hierbei steht eine große Auswahl verschiedener Strukturen zur Verfügung, die unterschiedliche Eigenschaften besitzen. Für die

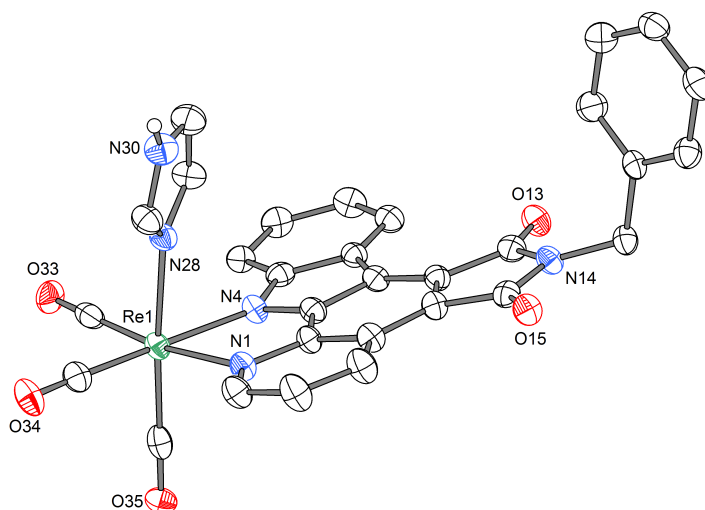


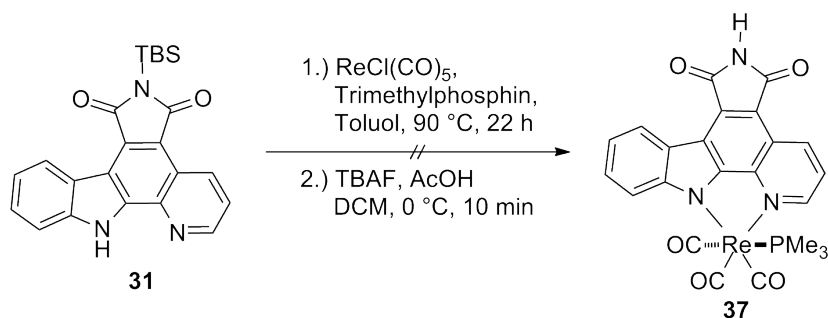
Abb. 3.13: Kristallstruktur des Rhenium(I)-Komplexes **36**. Fehlgeordnete Lösungsmittelmoleküle sind nicht gezeigt. ORTEP-Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit. Ausgewählte Bindungslängen (\AA) und Winkel ($^\circ$): $\text{Re1-C33} = 1.924(5)$, $\text{Re1-C34} = 1.923(4)$, $\text{Re1-C35} = 1.919(5)$, $\text{Re1-N1} = 2.215(3)$, $\text{Re1-N4} = 2.157(3)$, $\text{Re1-N28} = 2.198(3)$, $\text{C35-Re1-C34} = 88.45(17)$, $\text{C35-Re1-C33} = 90.06(17)$, $\text{C34-Re1-C33} = 89.73(17)$, $\text{C35-Re1-N4} = 95.04(14)$, $\text{C34-Re1-N4} = 172.54(15)$, $\text{C33-Re1-N4} = 96.85(15)$, $\text{C35-Re1-N28} = 175.83(15)$, $\text{C34-Re1-N28} = 94.10(15)$, $\text{C33-Re1-N28} = 93.25(15)$, $\text{N4-Re1-N1} = 77.26(12)$, $\text{C35-Re1-N1} = 95.76(15)$, $\text{C34-Re1-N1} = 95.85(14)$, $\text{C33-Re1-N1} = 172.04(14)$, $\text{N28-Re1-N1} = 80.71(13)$.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

Darstellung neuer Rhenium(I)-Komplexe wurde ein Phosphin verwendet, welches einen möglichst geringen räumlichen Anspruch hat. Größere Liganden könnten zum einen zu einer Verschlechterung der photozytotoxischen Eigenschaften aufgrund einer anderen Lokalisierung innerhalb der Zelle führen, zum anderen sind die Reste im Hinblick auf den späteren Einsatz als Inhibitoren für Proteinkinasen sterisch zu anspruchsvoll, um in die aktive Tasche der Enzyme zu passen. Aus diesem Grund wurde Trimethylphosphin als Ligand gewählt.

Die Synthese erfolgte zunächst analog zu der bereits beschriebenen Methode, in welcher Pyridocarbazol-Ligand **31**, der Rhenium(I)-Vorläufer und Trimethylphosphin in Toluol suspendiert und über Nacht erhitzt wurden (Schema 3.6). Allerdings konnte in diesem Fall kein Produkt isoliert werden, eine Bildung des Komplexes fand nicht statt. Als mögliche Ursache kommt hierbei der niedrige Siedepunkt von Trimethylphosphin in Frage, welches für die Reaktion als 1 M Lösung in THF eingesetzt wurde. Für die Bildung des Rhenium(I)-Komplexes **37** sind Temperaturen von 80 °C notwendig, eine Temperatur, die den Siedepunkt des Phosphins überschreitet. Eine Reaktion mit dem Rhenium(I)-Vorläufer fand nicht mehr statt.

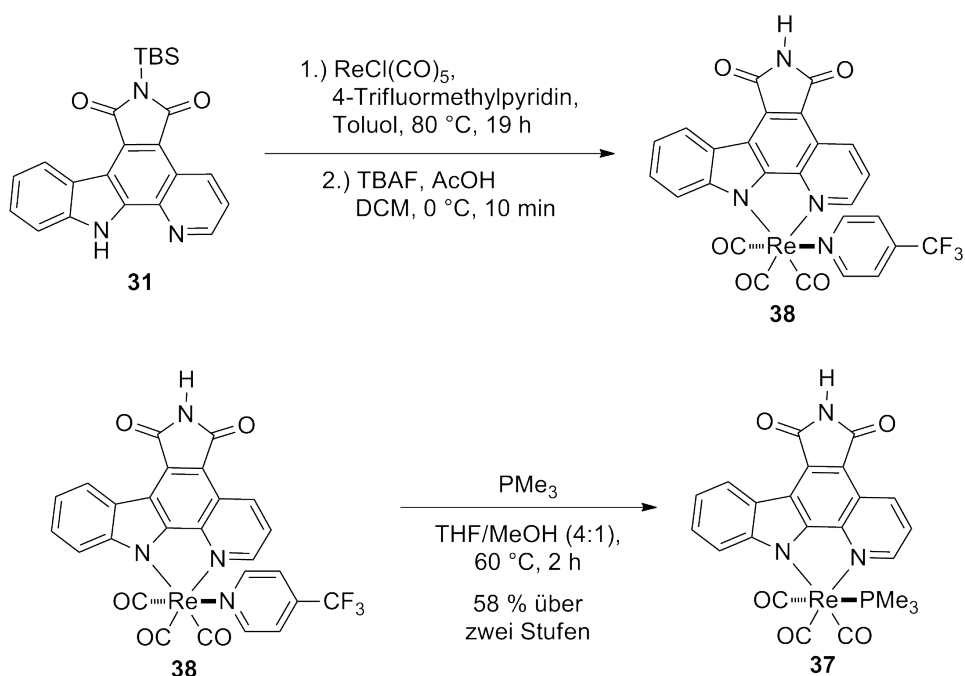
Aus diesem Grund wurde eine andere Synthesestrategie entwickelt. Wie bereits von SANDRA DIECKMANN während ihrer Doktorarbeit festgestellt wurde, ist die Darstellung eines Rhenium(I)-Komplexes mit 4-Trifluormethylpyridin (**38**) als monodentatem Liganden möglich. Da es sich hierbei um einen elektronenarmen Liganden handelt, ist die σ -Bindung zum Metallzentrum schwach ausgeprägt, was dazu führt, dass der Komplex nur über einen kurzen Zeitraum stabil ist.^[106] Der anschließende Austausch mit einem stabileren Liganden erfolgt schnell. Der Vorteil dieser Methode ist, dass die Darstellung



Schema 3.6: Versuch der Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **37**.

des Komplexes, inklusive der Entschützung des Pyridocarbazol-Liganden, bereits bekannt und reproduzierbar ist (Schema 3.7). Außerdem ist eine Verfolgung mittels Dünnschicht-Chromatographie (DC) im zweiten Schritt möglich. Nach erfolgreicher Reinigung des Vorläufer-Komplexes **38** wurde dieser in einem Gemisch aus THF/Methanol (4:1) gelöst, weil die verwendeten Verbindungen darin eine gute Löslichkeit aufwiesen. Im Anschluss erfolgte die Zugabe von Trimethylphosphin und leichtes Erhitzen für zwei Stunden, was zu einem kompletten Umsatz des Startmaterials, nachgewiesen mittels DC, führte. Rhenium(I)-Komplex **37** wurde mit einer Ausbeute von 58 % über zwei Stufen isoliert. Wie bereits bei Rhenium(I)-Komplex **32** sollte auch für **37** überprüft werden, ob der Austausch des monodentaten Liganden einen Einfluss auf die photozytotoxischen Eigenschaften hat. Dazu wurde zunächst das Absorptionsspektrum des Phosphin-Komplexes **37** bestimmt (Abb. 3.14). Mit einem Absorptionsmaximum von $\lambda = 516$ nm konnte gezeigt werden, dass der Austausch des monodentaten Liganden nahezu keinen Einfluss auf die Verschiebung des Maximums hat.

Des Weiteren wurde die Verbindung auf ihre Fähigkeit der Singulett-Sauerstoff-Produktion untersucht. Wie aus Abb. 3.15 ersichtlich ist, generierte **37**, wie die bisher



Schema 3.7: Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **37** über zwei Stufen.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

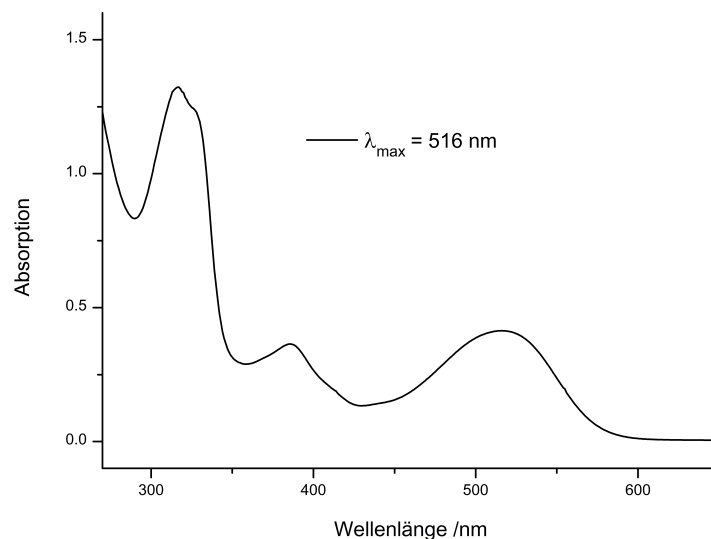


Abb. 3.14: Absorptionsspektrum des Rhenium(I)-Komplexes **37** ($60 \mu\text{M}$) in DMSO im Bereich 270–650 nm.

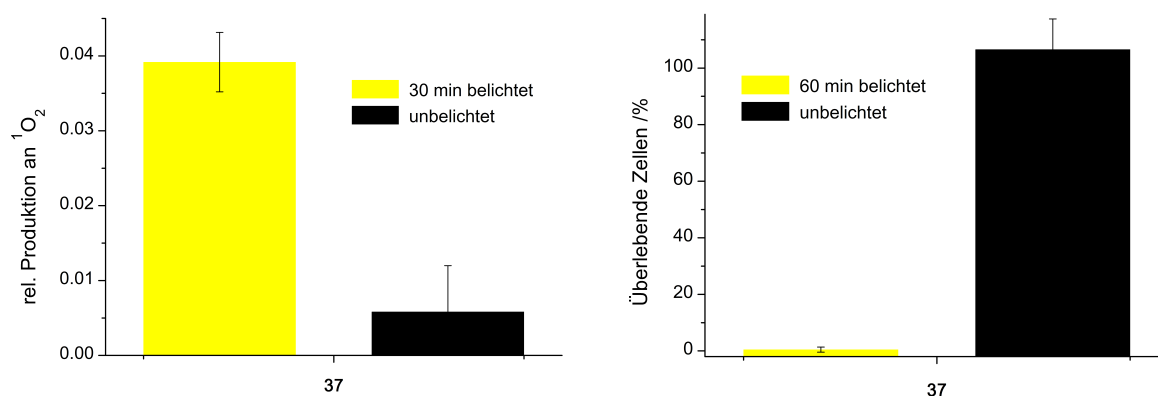


Abb. 3.15: Links: Singulett-Sauerstoff-Produktion des Rhenium(I)-Komplexes **37** ($50 \mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50 \mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung von 30 Minuten mit einem LED Reflektor verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten. Rechts: Photozytotoxizität des Rhenium(I)-Komplexes **37** in HeLa Zellen. Der Komplex ($1 \mu\text{M}$) wurde für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einem LED Reflektor 60 Minuten belichtet. Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

gezeigten Komplexe, die reaktive Spezies. Mittels MTT-Viabilitätsassay wurde außerdem das Zellüberleben von HeLa Zellen geprüft. Nach einer Belichtung von 60 Minuten überlebten weniger als 1 % der Zellen, während in der Dunkelheit keine Apoptose eingeleitet wurde. Die Verwendung von Phosphinen, in diesem Fall Trimethylphosphin, als monodentate Liganden bietet demnach eine Alternative zu stickstoffhaltigen Verbindungen. Ob sich Rhenium(I)-Komplex **37** aufgrund seiner Stabilität für weitere biologische Untersuchungen eignet, wurde in verschiedenen Stabilitätsmessungen geprüft. Dazu wurde eine Lösung von **37** in DMSO- d_6 /D₂O (9:1) unter Zugabe von 2-Mercaptoethanol mittels ¹H-NMR-Spektroskopie zeitlich verfolgt (Abb. 3.16). Selbst nach 168 Stunden war keine Änderung im Spektrum erkennbar. Die Verbindung war daher unter den angegebenen Bedingungen stabil.

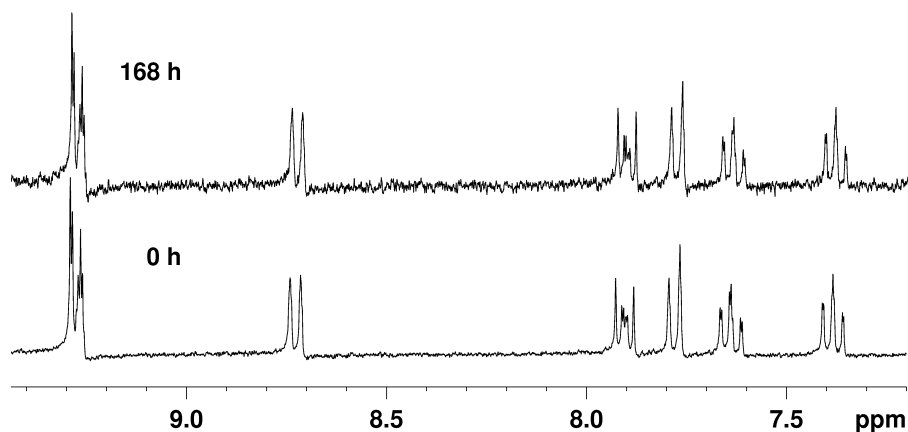


Abb. 3.16: Stabilitätstest des Rhenium(I)-Komplexes **37** (5 mM) nach Zugabe von 2-Mercaptoethanol (5 mM) in DMSO- d_6 /D₂O (9:1). Anhand der ¹H-NMR-Spektren kann erkannt werden, dass selbst nach 168 Stunden keine Veränderung auftrat, was die Stabilität des Komplexes belegt.

Um eine Photodissoziation des Liganden ebenfalls ausschließen zu können, wurde die Stabilität von **37** in DMSO- d_6 nach Zugabe von 4-Dimethylaminopyridin unter Belichtung mittels ¹H-NMR-Spektroskopie untersucht (Abb. 3.17). 4-Dimethylaminopyridin wurde gewählt, da dieser Ligand unter den gegebenen Bedingungen sehr stabile Rhenium(I)-Verbindungen bildet.^[106] Die Bildung des Rhenium(I)-Komplexes durch Dissoziation eines weniger stabilen Liganden ist demnach möglich. Selbst nach einer Belichtungszeit von fünf Stunden waren in den aufgenommenen ¹H-NMR-Spektren keine Unterschiede zu erkennen. Eine Photodissoziation des Phosphin-Liganden kann daher ausgeschlossen werden.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

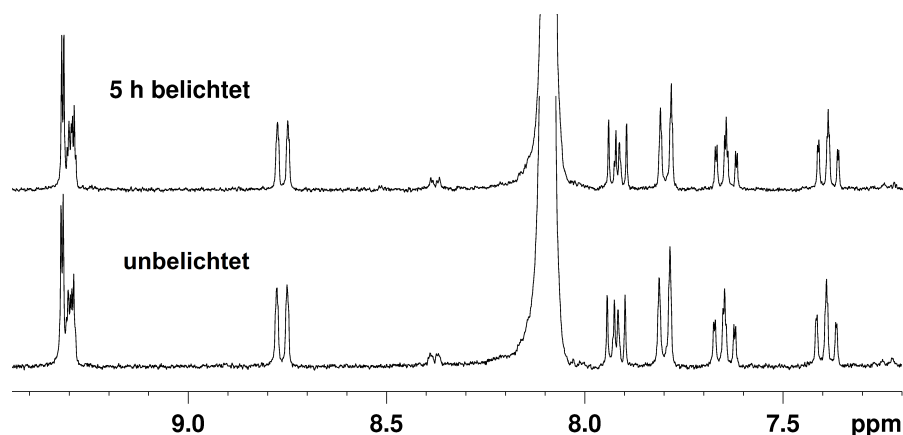


Abb. 3.17: Stabilitätstest des Rhenium(I)-Komplexes **37** (5 mM) nach Zugabe von 4-Dimethylaminopyridin (10.0 eq) in DMSO- d_6 . Selbst nach fünf Stunden Belichtung mit einem LED Reflektor sind keine Änderungen in den ^1H -NMR-Spektren zu erkennen.

Die Kristallstrukturanalyse von Komplex **37** zeigt, dass der Phosphin-Ligand, ebenso wie der Imidazol-Ligand, *trans* zu einem Carbonyl-Liganden und *cis* zum Pyridocarbazol-Liganden steht (Abb. 3.18). Der Pyridocarbazol-Ligand steht des Weiteren *trans* zu den zwei übrigen Carbonyl-Liganden. Die detektierten Bindungslängen sind ebenfalls

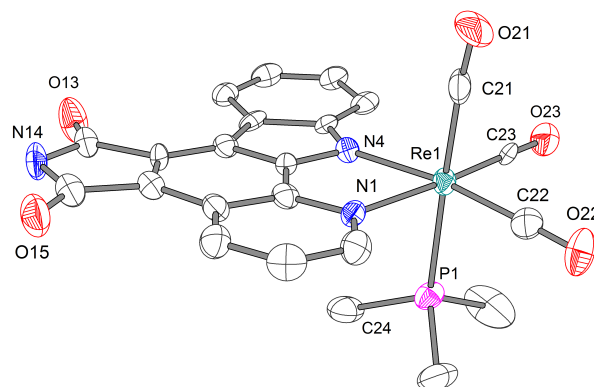


Abb. 3.18: Kristallstruktur des Rhenium(I)-Komplexes **37**. Fehlgeordnete Lösungsmittelmoleküle sind nicht gezeigt. ORTEP-Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit. Ausgewählte Bindungslängen (Å) und Winkel ($^\circ$): Re1-C21 = 1.941(11), Re1-C22 = 1.910(11), Re1-C23 = 1.882(12), Re1-N1 = 2.223(8), Re1-N4 = 2.173(7), Re1-P1 = 2.440(3), C21-Re1-N1 = 91.7(4), C21-Re1-N4 = 95.3(3), C21-Re1-P1 = 178.3(3), C22-Re1-C21 = 89.9(4), C22-Re1-N1 = 97.2(4), C22-Re1-N4 = 171.7(4), C22-Re1-P1 = 88.4(3), C23-Re1-C21 = 89.5(4), C23-Re1-C22 = 88.7(4), C23-Re1-N1 = 173.9(4), C23-Re1-N4 = 97.7(4), C23-Re1-P1 = 90.1(3), N1-Re1-P1 = 88.9(2), N4-Re1-N1 = 76.2(3), N4-Re1-P1 = 86.4(2).

vergleichbar, wie beispielsweise die Längen $\text{Re1-N1} = 2.223(8) \text{ \AA}$ oder $\text{Re1-C21} = 1.941(11) \text{ \AA}$ zeigen. Der Komplex bildet ein leicht verzerrtes Oktaeder mit ausgewählten Bindungswinkeln von $\text{C21-Re1-N1} = 91.7(4)^\circ$ und $\text{C21-Re1-P1} = 178.3(3)^\circ$.

In diesem Kapitel konnte erfolgreich gezeigt werden, dass ein Austausch des monodentaten Liganden für die Optimierung der Stabilität der Rhenium(I)-Komplexe ohne Verlust der photozytotoxischen Eigenschaften möglich ist. Alternativen zu dem bisherigen Pyridin-Liganden sind hierbei elektronenreiche, stickstoffhaltige Verbindungen oder Phosphine, die sterisch nicht zu anspruchsvoll sind.

3.1.4. Optimierung der Anregungswellenlänge der Rhenium(I)-Komplexe

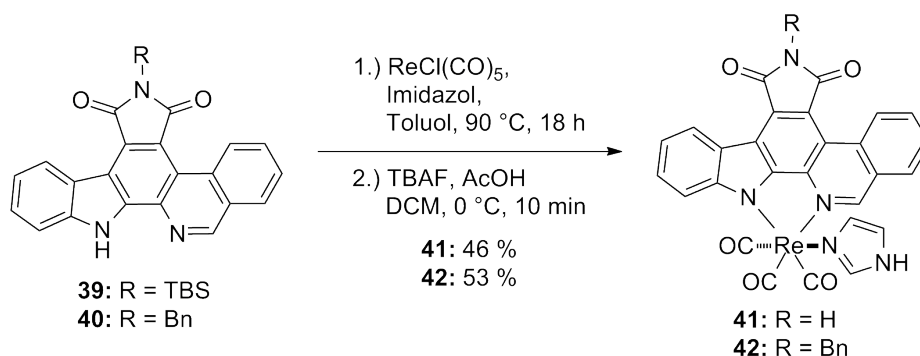
Neben einer gewissen Stabilität müssen die Rhenium(I)-Komplexe für die photodynamische Therapie eine Anregungswellenlänge $> 600 \text{ nm}$ aufweisen, um eine ausreichende Eindringtiefe des Lichtes in das Gewebe gewährleisten zu können.^[48,49] Da die bereits dargestellten Verbindungen lediglich ein Absorptionsmaximum von maximal 520 nm besitzen, musste dieses im Hinblick auf die PDT weiter optimiert werden.

Wie bereits im vorherigen Kapitel gezeigt, hat ein Austausch des monodentaten Liganden nahezu keinen Einfluss auf das Absorptionsspektrum. Allerdings konnte bereits von SANDRA DIECKMANN eine Abhängigkeit durch den Pyridocarbazol-Liganden festgestellt werden (vgl. Kap. 3.1.1.). Der schrittweise Aufbau des bidentaten Liganden vom Pyridylindol- zum finalen Pyridocarbazol-Liganden hatte eine Verschiebung der Wellenlänge von $\lambda = 373 \text{ nm}$ zu $\lambda = 512 \text{ nm}$ zur Folge.^[106] Weitere Modifikationen sollten eine zusätzliche Optimierung ermöglichen.

3.1.4.1. Verwendung des Isochinolinocarbazol-Gerüsts

Eine Erweiterung des aromatischen Systems des Pyridocarbazol-Liganden, aufbauend auf die bereits durchgeführten Modifikationen des bidentaten Liganden, sollte zu einer Erhöhung des Absorptionsmaximums führen. In der Arbeitsgruppe MEGGERS ist in diesem Zusammenhang bereits ein Ligand bekannt, bei dem der Pyridinring des Pyridocarbazols durch ein Isochinolin-Gerüst ersetzt ist.^[108] Nach erfolgreicher Synthese der Liganden **39** und **40** wurde Rhenium(I)-Komplex **41** analog zu den bereits bekannten Bedingungen dargestellt (Schema 3.8). Auch in diesem Fall wurden beide Enantiomere erhalten. Neben

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie



Schema 3.8: Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe **41** und **42**.

41 wurde ebenfalls der Benzyl-geschützte Komplex **42** für Kristallisationsversuche synthetisiert. Die Verwendung von Imidazol als monodentater Ligand erfolgte, da die gebildeten Verbindungen unter den gegebenen Bedingungen stabil waren und die Handhabung gegenüber Trimethylphosphin deutlich einfacher war.

Um herauszufinden, ob die Modifikation des bidentaten Liganden einen Einfluss auf das Absorptionsmaximum der Organometallverbindung hat, wurde ein UV/Vis-Spektrum von **41** im Bereich von 270–650 nm aufgenommen (Abb. 3.19). Der Rhenium(I)-Komplex besitzt lediglich ein Absorptionsmaximum von $\lambda = 511$ nm, was bedeutet, dass die Variation des Pyridocarbazol-Liganden nicht zu einer Verschiebung des Spektrums in den längerwelligen Bereich führte.

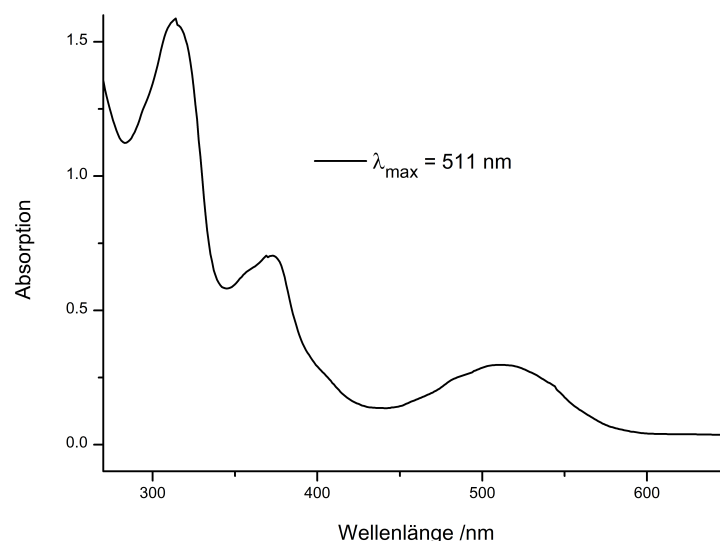


Abb. 3.19: Absorptionsspektrum des Rhenium(I)-Komplexes **41** ($60 \mu\text{M}$) in DMSO im Bereich 270–650 nm.

Verbindung **41** wurde trotz des niedrigen Absorptionsmaximums auf ihre photozytotoxischen Eigenschaften untersucht. So sollte überprüft werden, ob sie eine Alternative zu den bisher bekannten Komplexen ist. Während die Modifikation keinen Einfluss auf die Singulett-Sauerstoff-Produktion hatte (detaillierte Ergebnisse sind im Anhang), sorgte die Verwendung des Isochinolin-Gerüsts für einen Anstieg der Zellüberlebensrate, die mittels MTT-Viabilitätsassay gemessen wurde (Tab. 3.2). Hierbei konnte für **41** ein Zellüberleben von $30.7 \pm 16.7\%$ festgestellt werden. Unter den gleichen Bedingungen wurde für Imidazol-Komplex **32** in nahezu allen Zellen Apoptose eingeleitet. Der Einfluss des zusätzlichen Ringes konnte weder auf die $^1\text{O}_2$ -Generierung noch auf die Löslichkeit der Verbindung zurückgeführt werden. Ursächlich musste demnach die Position von **41** in den HeLa Zellen sein.

Tab. 3.2: Photozytotoxizität des Rhenium(I)-Komplexes **41** in HeLa Zellen. Der Komplex ($1\ \mu\text{M}$) wurde für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe 60 Minuten belichtet ($\lambda \geq 505\text{ nm}$). Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindung bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

Verbindung	Überlebensrate _{unbelichtet} /%	Überlebensrate _{belichtet} /%
41	114.0 ± 9.2	30.7 ± 16.7

Die Kristallstrukturanalyse von Verbindung **42** weist im Vergleich zu den bisherigen Ergebnissen keine Überraschung auf (Abb. 3.20). Der Imidazol-Ligand steht *trans* zu einem Carbonyl-Liganden und *cis* zu dem bidentaten Liganden. Der wiederum hat in *trans*-Stellung die zwei weiteren Carbonyl-Liganden. Die Bindungslängen sind mit beispielsweise $\text{Re1-N4} = 2.223(6)\ \text{\AA}$ und $\text{Re1-C37} = 1.922(9)\ \text{\AA}$ vergleichbar zu anderen Kristallstrukturdaten. Der Komplex bildet ein leicht verzerrtes Oktaeder mit ausgewählten Bindungswinkeln von $\text{C38-Re1-N32} = 177.6(3)^\circ$ oder $\text{C38-Re1-N4} = 97.4(3)^\circ$.

Da die bloße Erweiterung des aromatischen Gerüsts des Pyridocarbazol-Liganden nicht zu einer Verschiebung des Absorptionsspektrums in den längerwelligen Bereich führte, mussten Alternativen für die Optimierung gesucht werden.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

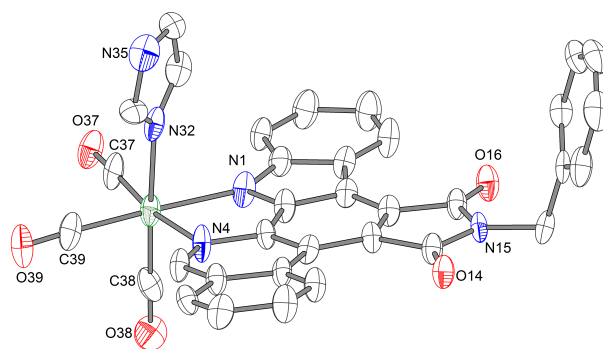


Abb. 3.20: Kristallstruktur des Rhenium(I)-Komplexes **42**. Fehlgeordnete Lösungsmittelmoleküle sind nicht gezeigt. ORTEP-Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit. Ausgewählte Bindungslängen (Å) und Winkel (°): Re1-C37 = 1.922(9), Re1-C38 = 1.851(9), Re1-C39 = 1.911(8), Re1-N1 = 2.133(6), Re1-N4 = 2.223(6), Re1-N32 = 2.160(7), C38-Re1-C39 = 88.1(3), C38-Re1-C37 = 88.9(4), C39-Re1-C37 = 90.1(3), C38-Re1-N1 = 94.3(3), C39-Re1-N1 = 172.3(3), C37-Re1-N1 = 97.3(3), C38-Re1-N32 = 177.6(3), C39-Re1-N32 = 94.1(3), C37-Re1-N32 = 91.7(3), N1-Re1-N32 = 83.4(2), C38-Re1-N4 = 97.4(3), C39-Re1-N4 = 95.9(3), C37-Re1-N4 = 171.4(3), N4-Re1-N1 = 76.5(2), N32-Re1-N1 = 81.8(2).

3.1.4.2. Modifizierung des Indol-Gerüsts des Pyridocarbazols

Neben der Erweiterung des Pyridocarbazol-Systems ist die Einführung verschiedener Substituenten an diesem Liganden möglich. In diesem Zusammenhang wurde bereits von SANDRA DIECKMANN Rhenium(I)-Komplex **43** dargestellt, der an der C5- und C7-Position des Indolrings statt eines Protons einen Fluor-Substituenten und einen Pyridin-Liganden besitzt (Abb. 3.21).^[106] Zusätzlich wurde die Benzyl-geschützte Verbindung **44** für Kristallisationsversuche synthetisiert.

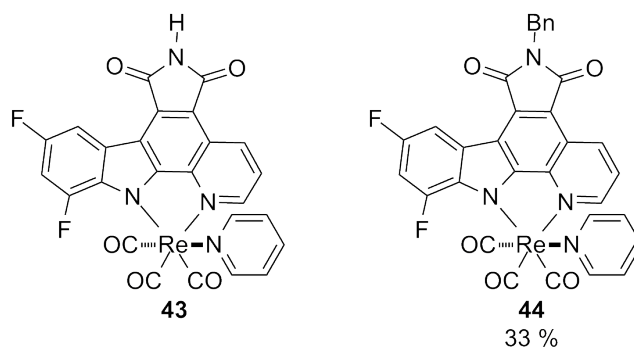


Abb. 3.21: Dargestellte Rhenium(I)-Komplexe **43** und **44**. **43** wurde bereits von SANDRA DIECKMANN während ihrer Doktorarbeit synthetisiert.^[106]

Die Bestimmung des Absorptionsspektrums von **43** zeigte, dass lediglich ein Absorptionsmaximum von $\lambda = 496$ nm erreicht wurde (Abb. 3.22). Im Vergleich zur unsubstituierten Imidazol-Verbindung **32** fand eine Verschiebung um 17 nm in den kürzerwelligen Bereich statt. Die Einführung der Fluor-Substituenten an der C5- und C7-Position des Indolringes beeinflusst das Maximum demnach im negativen Sinne.

Die Kristallstrukturanalyse von Verbindung **44** zeigt, dass der Pyridin-Ligand *trans* zu einem Carbonyl-Liganden und *cis* zu dem Pyridocarbazol-Liganden steht (Abb. 3.23). Der bidentate Ligand wiederum steht *trans* zu den weiteren Carbonyl-Liganden. Die detektierten Bindungslängen sind vergleichbar, wie an den ausgewählten Längen Re1-N4 = 2.229(4) Å und Re1-C36 = 1.920(6) Å erkannt werden kann. Es handelt sich um ein leicht verzerrtes Oktaeder mit ausgewählten Bindungswinkeln von C34-Re1-N1 = 172.15(18)° und C34-Re1-N28 = 93.5(2)°.

Worauf die Verschiebung des Absorptionsmaximums beruht, konnte während dieser Arbeit nicht geklärt werden und muss Gegenstand weiterer Forschung sein. Die Generierung von $^1\text{O}_2$ basiert auf der Absorption eines Protons und der damit verbundenen Anregung eines Elektrons aus dem Grundzustand in einen angeregten Zustand. Um welchen Übergang es sich dabei handelt, könnte z. B. durch DFT-Rechnungen oder Femtosekundenlaser-Spektroskopie geklärt werden. Es konnte allerdings festgehalten

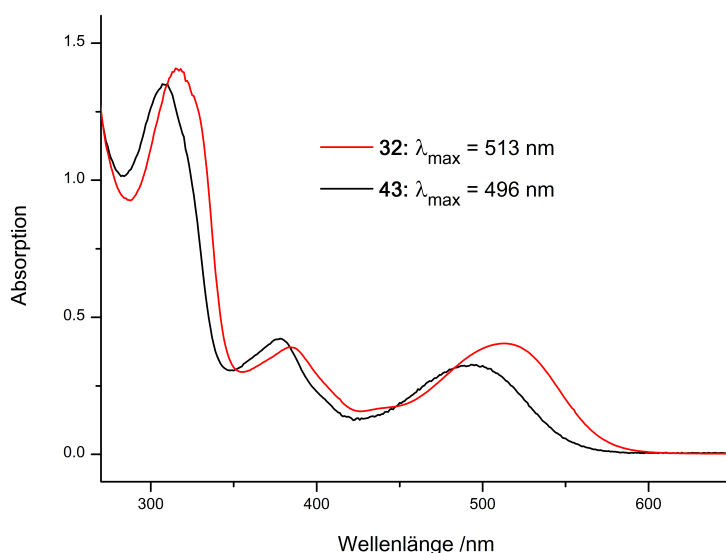


Abb. 3.22: Absorptionsspektrum des Rhenium(I)-Komplexes **43** (60 μM) in DMSO im Bereich 270–650 nm. Zum Vergleich ist außerdem das Spektrum von **32** dargestellt.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

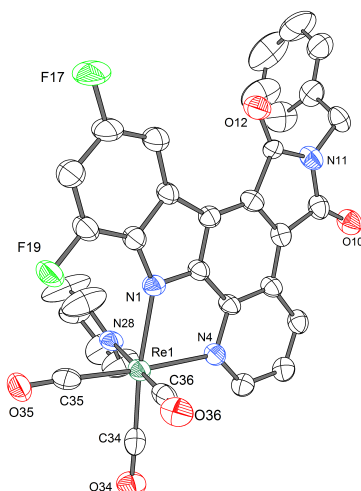
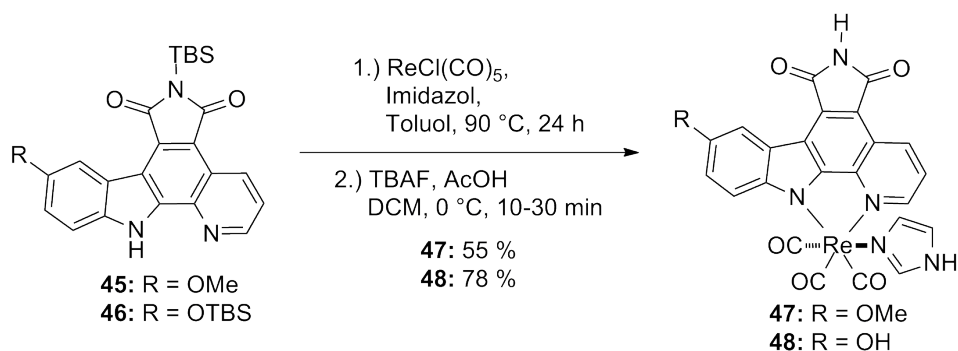


Abb. 3.23: Kristallstruktur des Rhenium(I)-Komplexes **44**. Fehlgeordnete Lösungsmittelmoleküle sind nicht gezeigt. ORTEP-Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit. Ausgewählte Bindungslängen (Å) und Winkel (°): Re1-C34 = 1.902(6), Re1-C35 = 1.892(6), Re1-C36 = 1.920(6), Re1-N1 = 2.181(4), Re1-N4 = 2.229(4), Re1-N28 = 2.216(4), C35-Re1-C34 = 87.0(2), C35-Re1-C36 = 87.1(2), C34-Re1-C36 = 89.8(2), C35-Re1-N1 = 100.66(18), C34-Re1-N1 = 172.15(18), C36-Re1-N1 = 92.44(19), C35-Re1-N28 = 90.6(2), C34-Re1-N28 = 93.5(2), C36-Re1-N28 = 175.87(18), N1-Re1-N28 = 84.56(15), C35-Re1-N4 = 173.8(2), C34-Re1-N4 = 95.33(18), C36-Re1-N4 = 98.62(18), N4-Re1-N1 = 76.89(14), N28-Re1-N4 = 83.49(15).

werden, dass die Einführung der Fluor-Substituenten an der C5- und C7-Position des Indolrings den Übergang so beeinflusst, dass mehr Energie aufgebracht werden muss, um das Elektron anzuregen, was sich in dem niedrigeren Absorptionsmaximum widerspiegelt. Die Fluor-Substituenten besitzen einen großen $-I$ - und einen vergleichbar kleinen $+M$ -Effekt, so dass die Elektronendichte des Indolrings erniedrigt wird. Werden folglich Substituenten verwendet, welche die Elektronendichte des Systems erhöhen, sollte das Absorptionsmaximum in den längerwelligen Bereich verschoben werden.

Substituenten, die diese Bedingung erfüllen, besitzen einen großen $+M$ -Effekt, wie z. B. eine Methoxy- oder Hydroxylgruppe. In diesem Zusammenhang ist die Synthese der Pyridocarbazol-Liganden **45** und **46** in der Arbeitsgruppe MEGGERS bereits bekannt und von KATJA KRÄLING durchgeführt worden. Die Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **47** erfolgte unter den schon bekannten Bedingungen (Schema 3.9). Die Synthese von **48** wurde durch Reaktion mit dem zweifach TBS-geschützten Pyridocarbazol-Liganden **46**



Schema 3.9: Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe **47** und **48**.

durchgeführt. Hierbei erfolgte zunächst eine säulenchromatographische Reinigung, wobei ein Gemisch aus einfach und zweifach geschütztem Komplex erhalten wurde. Dieses wurde im Anschluss mit Tetrabutylammoniumfluorid vollständig entschützt, so dass Komplex **48** erhalten wurde.

Schon während der Aufarbeitung der Verbindungen konnte ein Eindruck vom Aussehen der Absorptionsspektren erhalten werden. Während die bisherigen Komplexe in Lösung leuchtend rot waren, besaß **48** eine violette Farbe. Eine Bestätigung dieser Beobachtung lieferte die Aufnahme von UV/Vis-Spektren der beiden Verbindungen im Bereich von 300–650 nm (Abb. 3.24). Während die Methoxygruppe (**47**) nahezu keinen Effekt auf das Absorptionsspektrum hatte, verschob die Hydroxylgruppe (**48**) mit einem Absorptionsmaximum von $\lambda = 539$ nm das Spektrum in den längerwelligen Bereich. Dieses Ergebnis war so zu erwarten, da der +M-Effekt der Hydroxylgruppe, verbunden mit einer höheren Elektronendichte des Indolrings, im Vergleich zur Methoxygruppe deutlich größer ist.

Substituenten, deren +M-Effekt noch größer ist, sollten demnach das Absorptionsspektrum der Rhenium(I)-Komplexe zusätzlich in den längerwelligen Bereich verschieben. Mögliche Substituenten sind hierbei Amine unter Verwendung einer möglichst kurzen Seitenkette, da diese möglicherweise die Lokalisation der Verbindung in der Zelle steuert und den +M-Effekt am Indolring verkleinert. Dimethylamin erfüllt diese Bedingungen und wurde daher im Folgenden als Substituent verwendet.

Da die Darstellung eines Pyridocarbazol-Liganden mit Dimethylamin-Substituent an der C5-Position des Indolrings in der Literatur noch nicht beschrieben wurde, musste eine neue Synthesestrategie entwickelt werden. Die Arbeitsgruppe um BUCHWALD beschäftigte

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

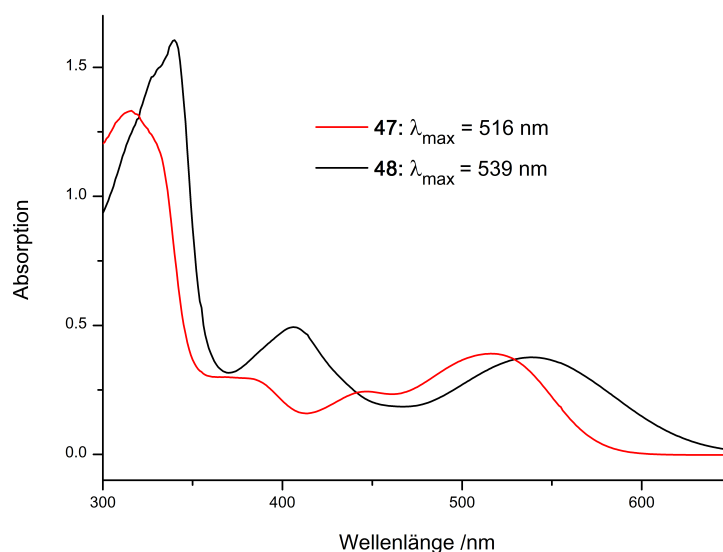
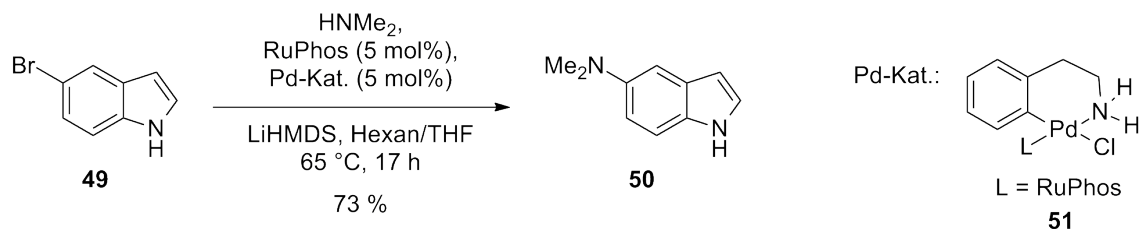


Abb. 3.24: Absorptionsspektren der Rhenium(I)-Komplexe **47** und **48** ($60\ \mu\text{M}$) in DMSO im Bereich 300–650 nm.

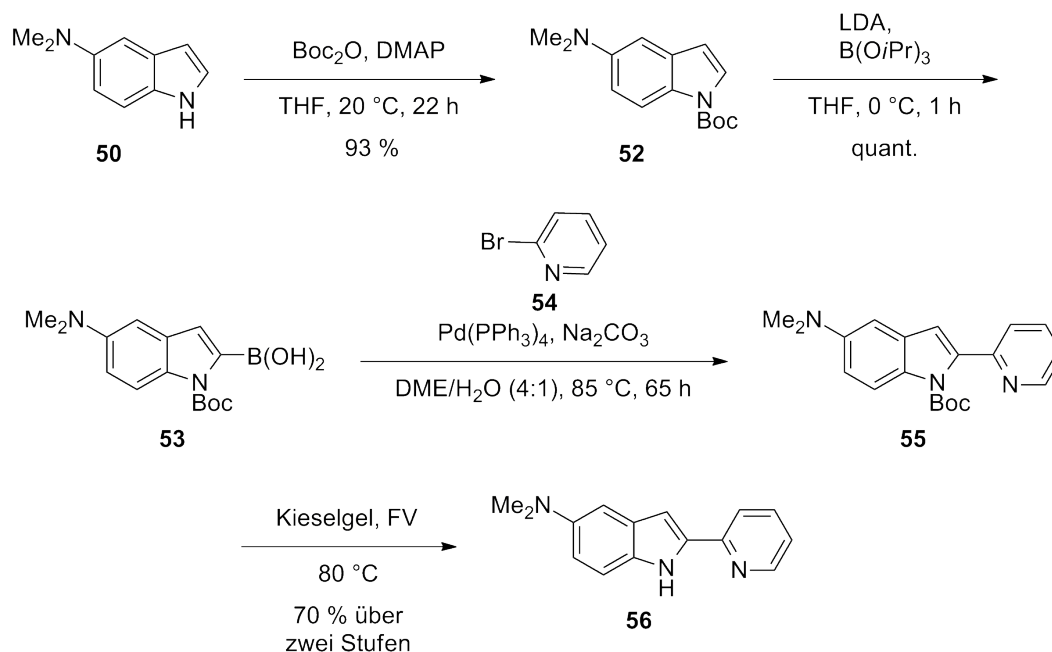
sich mit der Modifizierung von Indolen, Indazolen oder Benzimidazolen, um eine Methode für die direkte Aminierung ungeschützter, halogener Heterozyklen zu entwickeln.^[123] Sie konnte dabei auf eine Gruppe von Katalysatoren mit neuen Phosphin-Liganden für CN-Kreuzkupplungs-Reaktionen zurückgreifen.^[124,125] BUCHWALD entdeckte ein Verfahren, beruhend auf dem Phosphin-Liganden RuPhos, der Base LiHMDS und dem Lösungsmittel THF, bei welchem 4-, 5- und 6-Bromindazole sowohl mit aromatischen als auch aliphatischen, sekundären Aminen gezielt CN-Kreuzkupplungs-Reaktionen eingehen. Ob dieses Prinzip auf die Darstellung von 5-Aminoindol übertragen werden kann, wurde im Folgenden untersucht. Hierbei wurde käuflich erworbenes 5-Bromindol (**49**) in einem Druckröhrchen mit Dimethylamin, dem Pd(0)-Katalysator **51** mit RuPhos als Phosphin-Liganden und LiHMDS umgesetzt (Schema 3.10). Nach einer Reaktionszeit von 17 Stunden wurde die Reaktion durch die Zugabe von Salzsäure beendet, so dass nach säulenchromatographischer Reinigung das Produkt mit einer Ausbeute von 73 % erhalten wurde. Eine vorherige Schützung von **49** war nicht nötig, da der Katalysator selektiv an der 5-Position reagiert. Weitere Nebenprodukte konnten bei der Reaktion nicht detektiert werden.

Ausgehend von **50** wurde die bereits in der Arbeitsgruppe MEGGERS entwickelte Synthesestrategie zur Herstellung des Pyridocarbazol-Liganden verwendet (Schema 3.11).^[109]



Schema 3.10: Darstellung von *N,N*-Dimethyl-1*H*-indol-5-amin (**50**) durch eine BUCHWALD-HARTWIG-Reaktion ausgehend von 5-Bromindol (**49**).

Zunächst wurde das Stickstoff-Atom des Indolringes unter Standardbedingungen Boc-geschützt (**52**). Die Einführung der Boronsäure erfolgte selektiv an der C2-Position durch den *ortho*-dirigierenden Effekt der Boc-Schutzgruppe. Da **53** unter Normalbedingungen keine ausreichende Stabilität besitzt, wurde die Verbindung ohne Reinigung direkt weiter umgesetzt. Die anschließende SUZUKI-Kreuzkupplung mit 2-Brompyridin (**54**) lieferte Pyridylindol **55**, bei welchem der Indol-Stickstoff teilweise während der Reaktion entschützt wurde. Weil eine Trennung des Gemisches säulenchromatographisch nicht möglich war, wurde dieses an Silicagel adsorbiert und im Feinvakuum über Nacht erhitzt. Nach erneuter säulenchromatographischer Reinigung konnte das entschützte Pyridylindol **56** schließlich



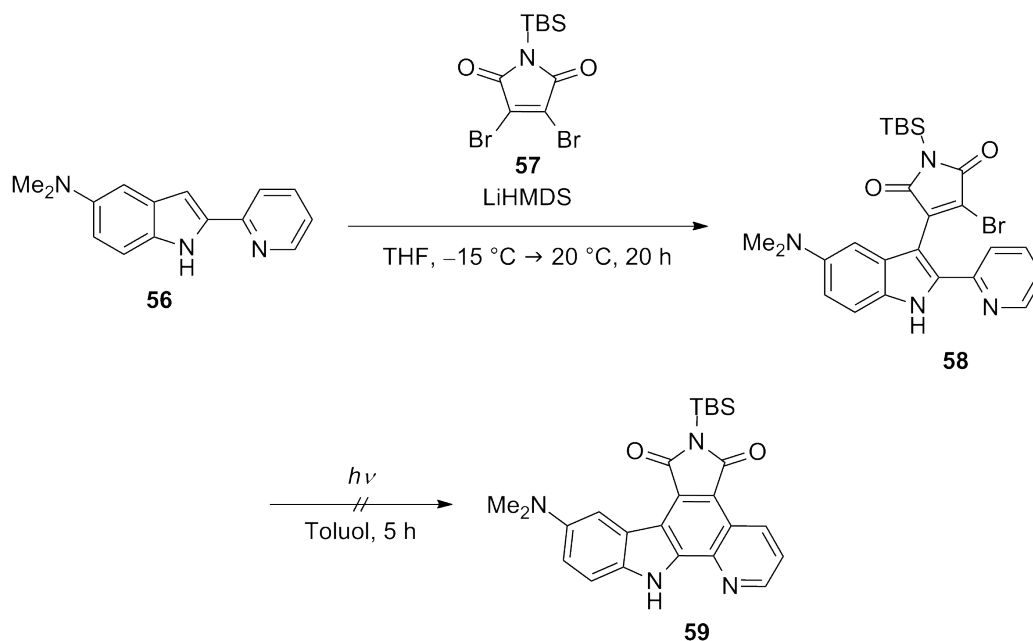
Schema 3.11: Darstellung des Pyridylindols **56** ausgehend von *N,N*-Dimethyl-1*H*-indol-5-amin (**50**) über vier Stufen.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

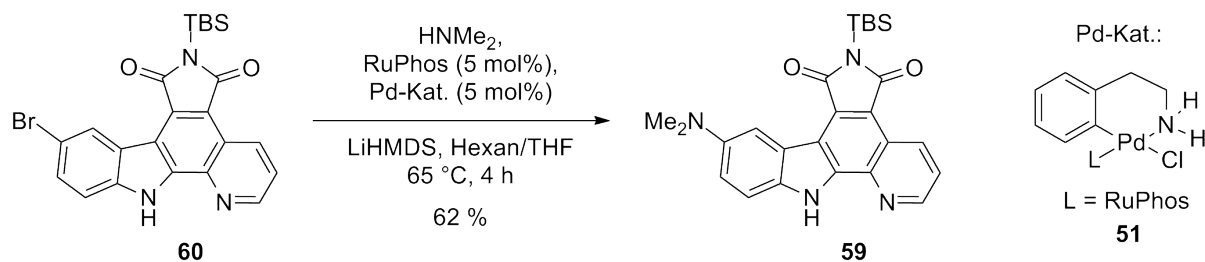
mit einer Ausbeute von 70 % über zwei Stufen erhalten werden.

Basierend auf einer Methode der Arbeitsgruppe MURASE^[126,127] wurde **56** mit LiHMDS umgesetzt und im Anschluss mit dem TBS-geschützten Dibrommaleimid **57** versetzt, um das reaktive Monobromid **58** zu bilden (Schema 3.12). Die Zyklisierung des Monobromids sollte durch die Photolyse mit einer Mitteldruck-Dampflampe erfolgen. Allerdings konnte selbst nach einer Belichtungszeit von fünf Stunden durch Reaktionskontrolle per DC kein Umsatz zu Produkt **59** erkannt werden. Stattdessen konnte die Bildung eines häufig entstehenden Nebenproduktes detektiert werden. Hierbei handelte es sich ebenfalls um eine Zyklisierungsreaktion, bei welchem das Bromid-Ion durch den Stickstoff des Pyridinringes unter Bildung eines Pyridinium-Salzes substituiert wurde. Auch die Erhöhung der Reaktionszeit oder das Ändern des Lösungsmittels führten nicht zur Bildung des gewünschten Produktes. Aus diesem Grund musste eine alternative Synthesestrategie entwickelt werden.

Da die Zyklisierung des Monobromids **58** nicht zum Erfolg führte, wurde zunächst das bereits in der Arbeitsgruppe bekannte Pyridocarbazol **60** mit einem Brom-Substituenten an der C5-Position dargestellt. Die CN-Kreuzkupplungs-Reaktion durch die Methode von BUCHWALD sollte im Anschluss erfolgen (Schema 3.13). Die Reaktion wurde unter den



Schema 3.12: Versuch der Darstellung des Pyridocarbazols **59** durch Photolyse des Monobromids **58**.

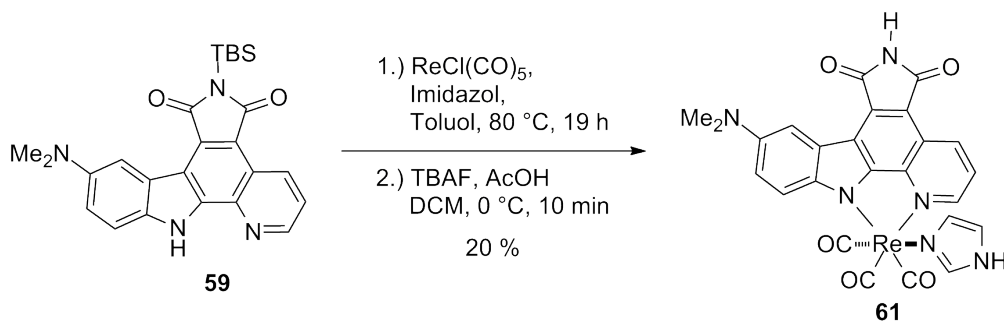


Schema 3.13: Erfolgreiche Darstellung des Pyridocarbazols **59** durch eine BUCHWALD-HARTWIG-Reaktion.

bereits für das Indol bekannten Bedingungen durchgeführt. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte Pyridocarbazol **59** mit einer Ausbeute von 62 % erhalten werden. Auch in diesem Fall war eine vorherige Schützung des Indol-Stickstoffes nicht notwendig, da der Pd(0)-Katalysator selektiv an der 5-Position des Indols reagierte.

Die Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **61** konnte im Anschluss unter den bereits bekannten Bedingungen erfolgen (Schema 3.14). Eine Suspension des Pyridocarbazol-Liganden **59**, des Rhenium(I)-Vorläufers und von Imidazol in Toluol wurde über Nacht erhitzt. Die TBS-Entschützung erfolgte mittels Tetrabutylammoniumfluorid. Da eine säulenchromatographische Reinigung mit Hexan/Ethylacetat das Produkt nicht mit der gewünschten Reinheit lieferte, wurde der Komplex erneut mit einem anderen Lösungsmittelgemisch (Dichlormethan/Methanol) gereinigt.

Bereits die braun/schwarze Farbe des Rhenium(I)-Komplexes **61** spricht für eine Verschiebung des Absorptionsspektrums in den längerwelligen Bereich. Um Gewissheit über das Absorptionsmaximum zu bekommen, wurde ein UV/Vis-Spektrum der Verbindung im Bereich 300–750 nm aufgenommen (Abb. 3.25). Mit einem Maximum von $\lambda = 562\text{ nm}$



Schema 3.14: Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **61**.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

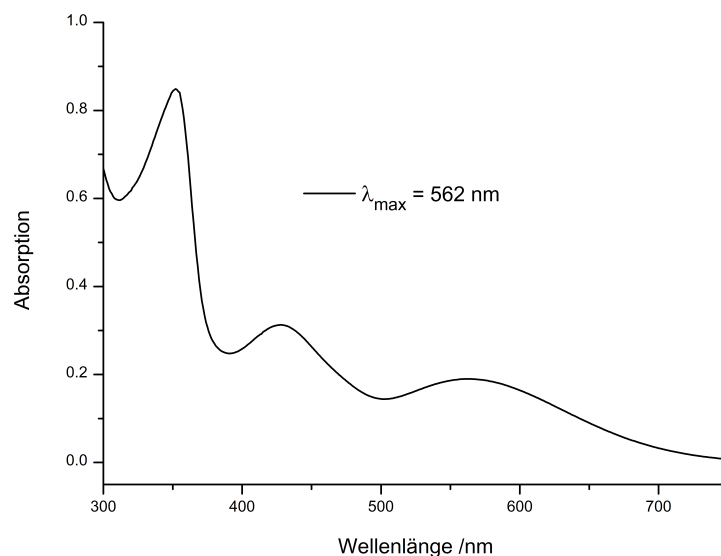


Abb. 3.25: Absorptionsspektrum des Rhenium(I)-Komplexes **61** ($60\ \mu\text{M}$) in DMSO im Bereich 300–750 nm.

konnte eine deutliche Verschiebung erkannt werden, was im Einklang mit dem größeren +M-Effekt steht. Im Vergleich zur Absorptionsbande anderer Rhenium(I)-Komplexe fällt auf, dass die Intensität in diesem Fall zwar deutlich geringer, die Bande aber breiter ist. Selbst bei $\lambda = 650\text{ nm}$ sollte eine Anregung noch möglich sein.

Ob die Modifikationen an der 5-Position des Indolringes einen Einfluss auf die Stabilität der Verbindungen haben, wurde im Folgenden untersucht, wobei sich auf die Photostabilität beschränkt wurde (Abb. 3.26, Abb. 3.27, Abb. 3.28). Dazu wurden jeweils Lösungen der drei Komplexe (5 mM), mit Methoxy- und Hydroxylgruppe sowie mit Dimethylamin-Substituent, in $\text{DMSO-}d_6$ hergestellt und im Fall von **47** und **48** mit 4-Dimethylaminopyridin versetzt und belichtet. Dass die Ausschnitte aus den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren unter diesen Bedingungen keine Änderungen zeigen, belegt, dass die Einführung verschiedener Substituenten keinen Einfluss auf die Stabilität der Rhenium(I)-Komplexe hat.

Zusammenfassend konnte in diesem Kapitel gezeigt werden, dass eine Verschiebung des Absorptionsmaximums durch die Modifizierung des Indolringes des Pyridocarbazol-Liganden an der C5-Position möglich ist. Die Einführung eines Substituenten mit +M-Effekt, der die Elektronendichte des Indols erhöht, sorgt hierbei für eine Verschiebung in den längerwelligen Bereich.

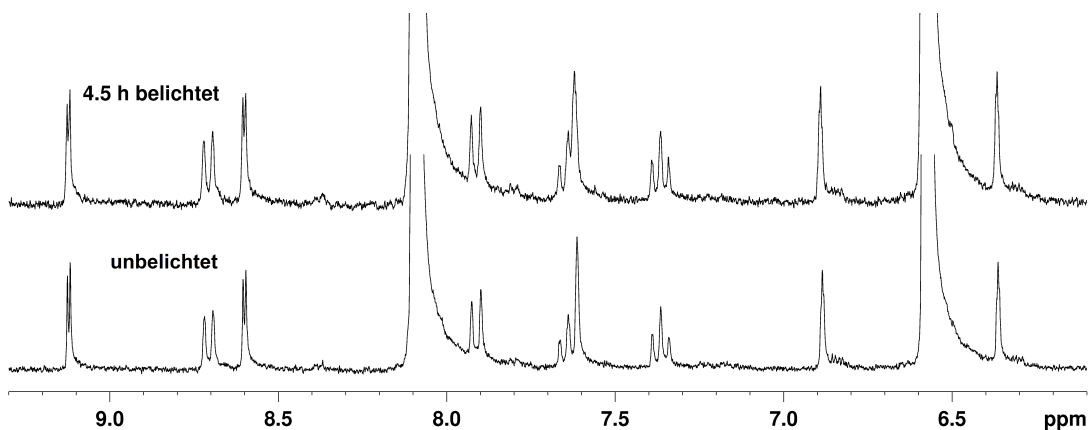


Abb. 3.26: Stabilitätstest des Rhenium(I)-Komplexes **47** (5 mM) nach Zugabe von 4-Dimethylaminopyridin (10.0 eq) in DMSO- d_6 . Selbst nach einer Belichtungszeit von 4.5 Stunden mit einem LED Reflektor sind keine Änderungen in den ^1H -NMR-Spektren zu erkennen.

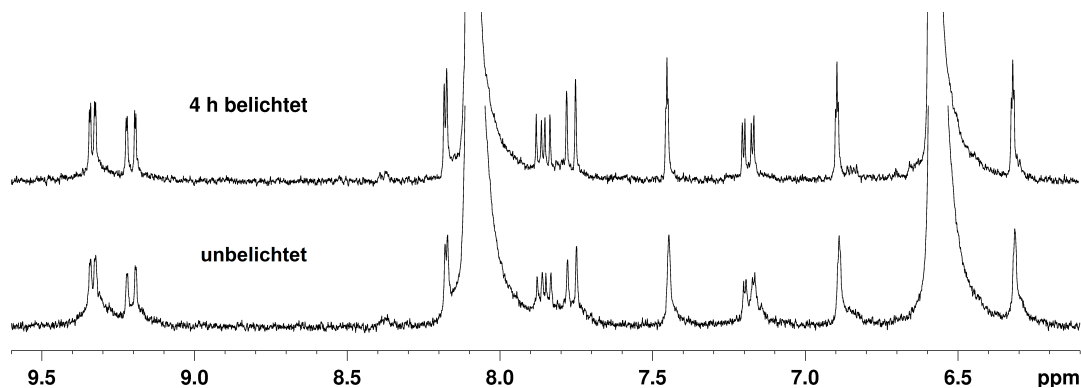


Abb. 3.27: Stabilitätstest des Rhenium(I)-Komplexes **48** (5 mM) nach Zugabe von 4-Dimethylaminopyridin (10.0 eq) in DMSO- d_6 . Selbst nach einer Belichtungszeit von vier Stunden mit einem LED Reflektor sind keine Änderungen in den ^1H -NMR-Spektren zu erkennen.

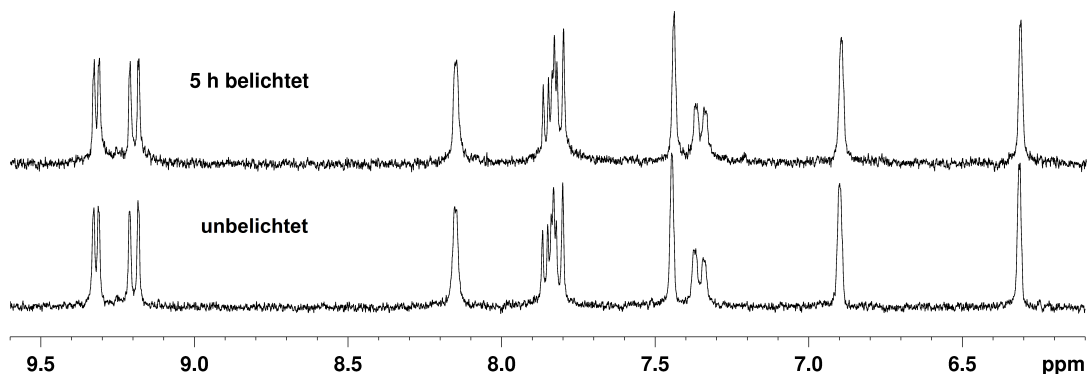


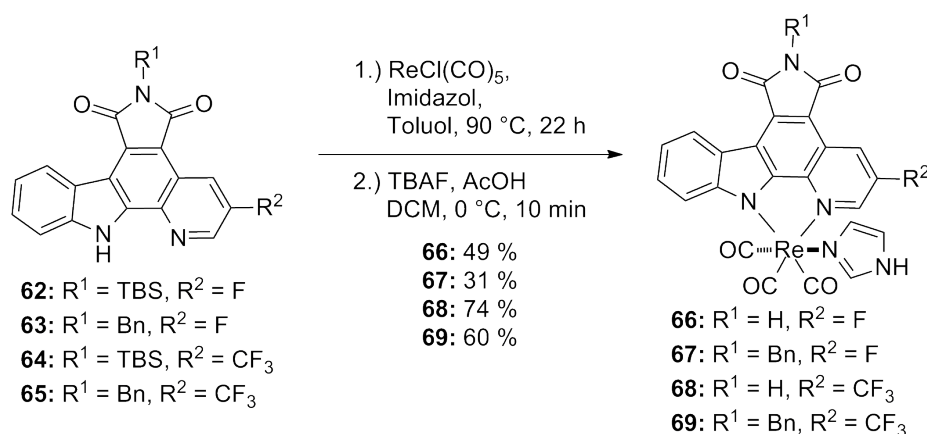
Abb. 3.28: Stabilitätstest des Rhenium(I)-Komplexes **61** (5 mM) in DMSO- d_6 . Selbst nach einer Belichtungszeit von fünf Stunden mit einem LED Reflektor sind keine Änderungen in den ^1H -NMR-Spektren zu erkennen.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

3.1.4.3. Modifizierung des Pyridinringes des Pyridocarbazols

Neben Modifikationen am Indol-Gerüst des Pyridocarbazol-Liganden sind Variationen des Pyridinringes möglich. Hierbei kommen verschiedene Substituenten in Frage, wobei die Darstellungen der Pyridocarbazol-Liganden mit einem Fluor-Substituenten oder einer Trifluormethylgruppe an der C3-Position in der Arbeitsgruppe bereits bekannt sind. Daher wurde sich auf diese beiden Liganden konzentriert.

In diesem Zusammenhang wurden während der Bachelorarbeit von PATRICK SZABO die Rhenium(I)-Komplexe mit Fluor-Substituent bzw. Trifluormethylgruppe dargestellt und auf ihre photozytotoxischen Eigenschaften untersucht. Für Kristallisationsversuche erfolgte ebenfalls die Synthese der Benzyl-geschützten Verbindungen.^[128] Nach bereits bekannten Bedingungen wurden **66**–**69** erhalten (Schema 3.15). Durch Modifikationen bezüglich der Reinigung und der Reaktionsbedingungen im Rahmen dieser Arbeit konnten die Ausbeuten erhöht werden.



Schema 3.15: Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe **66**–**69** während der Bachelorarbeit von PATRICK SZABO.

Während die Kristallisationsversuche des Rhenium(I)-Komplexes **67** erfolglos blieben, konnte für Verbindung **69** eine Kristallstruktur erhalten werden (Abb. 3.29). Die Kristallstrukturanalyse zeigt, dass der Imidazol-Ligand *trans* zu einem Carbonyl-Liganden und *cis* zu dem bidentaten Liganden steht. Dieser wiederum hat in *trans*-Position zwei weitere Carbonyl-Liganden. Die Bindungslängen, wie beispielsweise $\text{Re1-N1} = 2.239(4) \text{ \AA}$ und $\text{Re1-C36} = 1.912(6) \text{ \AA}$, sind vergleichbar mit den anderen Verbindungen. Der Komplex bildet ein leicht verzerrtes Oktaeder mit ausgewählten Bindungswinkeln

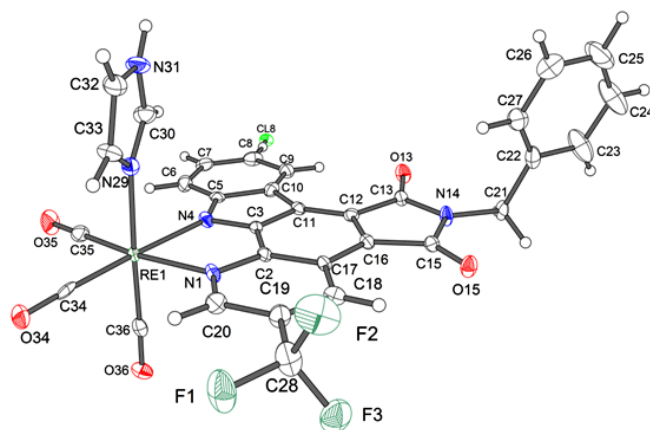


Abb. 3.29: Kristallstruktur des Rhenium(I)-Komplexes **69**. Fehlgeordnete Lösungsmittelmoleküle sind nicht gezeigt. ORTEP-Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit. Ausgewählte Bindungslängen (Å) und Winkel (°): Re1-C34 = 1.919(6), Re1-C35 = 1.913(6), Re1-C36 = 1.912(6), Re1-N1 = 2.239(4), Re1-N4 = 2.177(4), Re1-N29 = 2.189(4), C36-Re1-C35 = 89.9(2), C36-Re1-C34 = 86.3(2), C35-Re1-C34 = 89.6(2), C36-Re1-N4 = 95.07(18), C35-Re1-N4 = 96.5(2), C34-Re1-N4 = 173.75(19), C36-Re1-N29 = 175.2(2), C35-Re1-N29 = 94.8(2), C34-Re1-N29 = 92.52(18), N4-Re1-N29 = 85.66(16), C36-Re1-N1 = 92.37(19), C35-Re1-N1 = 172.82(19), C34-Re1-N1 = 97.19(18), N4-Re1-N1 = 76.67(16), N29-Re1-N1 = 83.13(16).

von $\text{C34-Re1-N4} = 173.75(19)^\circ$ und $\text{C35-Re1-N29} = 94.8(2)^\circ$. Interessant an dieser Kristallstruktur ist, dass neben der gewünschten Verbindung eine Verunreinigung von etwa 10 % detektiert wurde. Diese konnte bereits im NMR-Spektrum erkannt werden, eine Entfernung durch säulenchromatographische Reinigung war jedoch nicht möglich, da ihr R_f -Wert in verschiedenen Laufmittelgemischen nahezu identisch zu **69** war. Während der Bildung des Produktes lief eine Nebenreaktion an der C5-Position des Indolringes ab. Es kam zu einer Substitution des Protons durch ein Chlorid-Ion, das während der Komplexbildung durch den Rhenium(I)-Vorläufer freigesetzt wurde.

Bei einem Fluor-Substituenten oder einer Trifluormethylgruppe handelt es sich Substituenten, welche einen $-I$ -Effekt besitzen und so die Elektronendichte des aromatischen Systems erniedrigen. Welchen Einfluss diese Modifikationen bzgl. des Absorptionsmaximums haben, sollte durch die Aufnahme von UV/Vis-Spektren der Komplexe **66** und **68** im Bereich von 300–650 nm geklärt werden (Abb. 3.30). Hierbei lieferten erneut schon die Farben der Verbindungen einen Hinweis, da sie sich von rot nach violett verändert

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

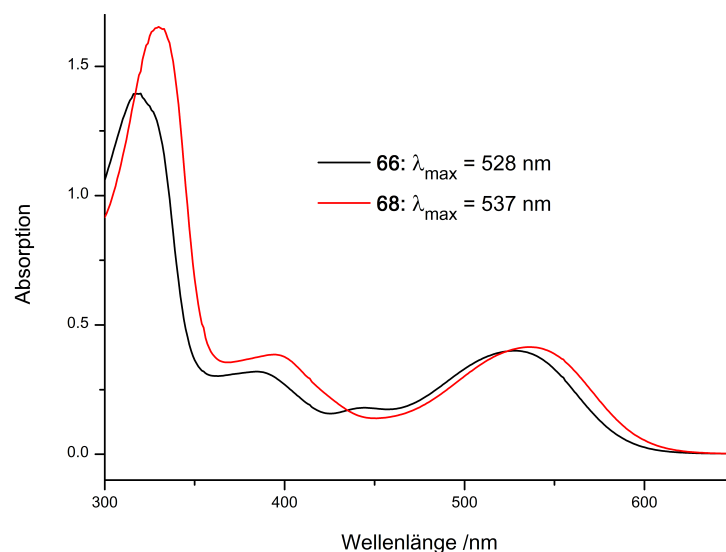


Abb. 3.30: Absorptionsspektren der Rhenium(I)-Komplexe **66** und **68** ($60\ \mu\text{M}$) in DMSO im Bereich 300–650 nm.

hatten. Mit Absorptionsmaxima von $\lambda = 528\ \text{nm}$ für **66** und $\lambda = 537\ \text{nm}$ für **68** konnte eine deutliche Verschiebung, abhängig von der Größe des $-I$ -Effektes, in den längerwelligen Bereich erkannt werden.

Der Einfluss der Substituenten auf die Stabilität der Verbindungen sollte durch ^1H -NMR-Spektroskopie gezeigt werden, wobei sowohl auf die Stabilität unter Belichtung als auch auf die Langzeit-Stabilität eingegangen wurde (Abb. 3.31, Abb. 3.32). Selbst nach einer Belichtungszeit von vier Stunden war keine Veränderung in den ^1H -NMR-Spektren zu erkennen. Die Rhenium(I)-Komplexe **66** und **68** waren ebenfalls unter physiologischen Bedingungen stabil, d. h. der Substituent am Pyridinring hat keinen Einfluss auf die untersuchten Stabilitäten.

Eine Kombination der beiden Substituenten mit einem $+M$ -Effekt an der C5-Position des Indolrings und einem $-I$ -Effekt an der C3-Position des Pyridinrings sollte zu einer weiteren Verschiebung des Absorptionsspektrums in den längerwelligen Bereich führen, um eine Anregung der Komplexe mit Licht der Wellenlänge $\lambda = 600\ \text{nm}$ möglich zu machen. In diesem Zusammenhang wurde bereits von RAJATHEES RAJARATNAM Pyridocarbazol-Ligand **70** dargestellt, der am Indolring eine Methoxygruppe und am Pyridinring einen Fluor-Substituenten besitzt. Die anschließende Synthese des Rhenium(I)-Komplexes **71** erfolgte unter bekannten Bedingungen (Schema 3.16).

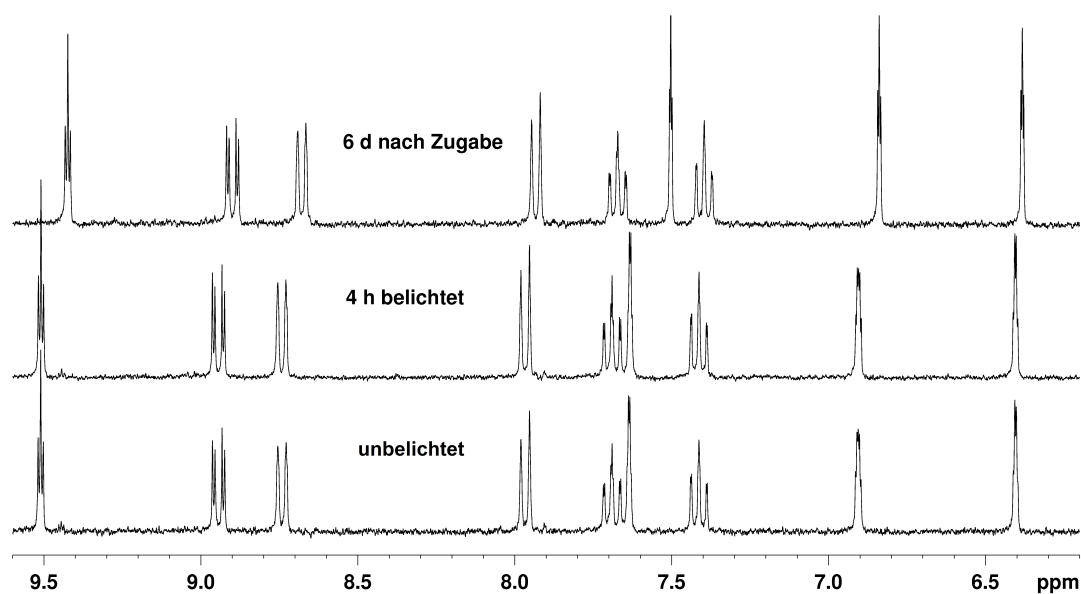


Abb. 3.31: Stabilitätstest des Rhenium(I)-Komplexes **66** (5 mM) in DMSO- d_6 . Selbst nach einer Belichtungszeit von vier Stunden sind keine Änderungen in den ^1H -NMR-Spektren zu erkennen. Nach sechs Tagen und Zugabe von D_2O und 2-Mercaptoethanol (5 mM) zeigt die Verbindung ebenfalls keine Veränderung.

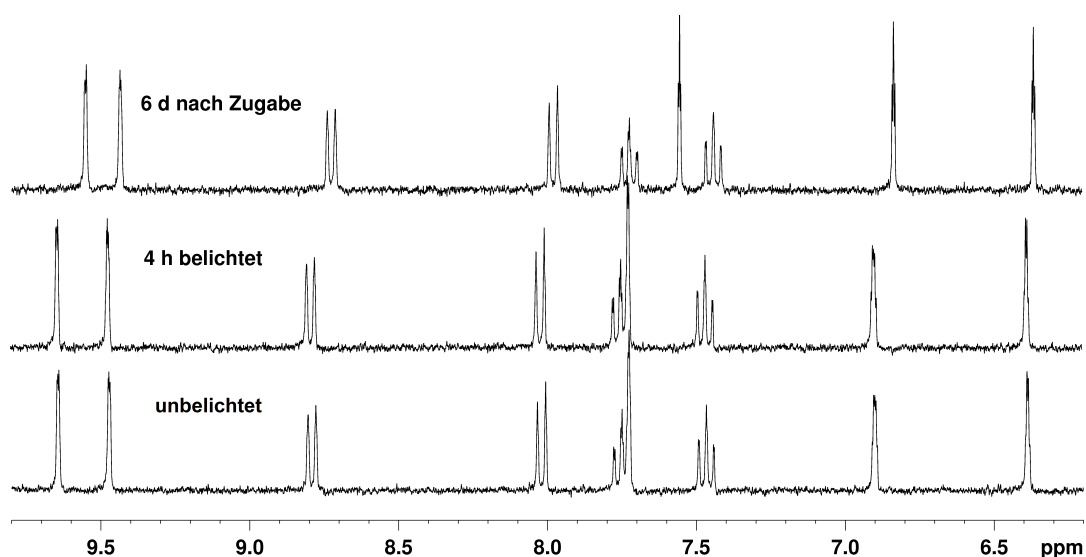
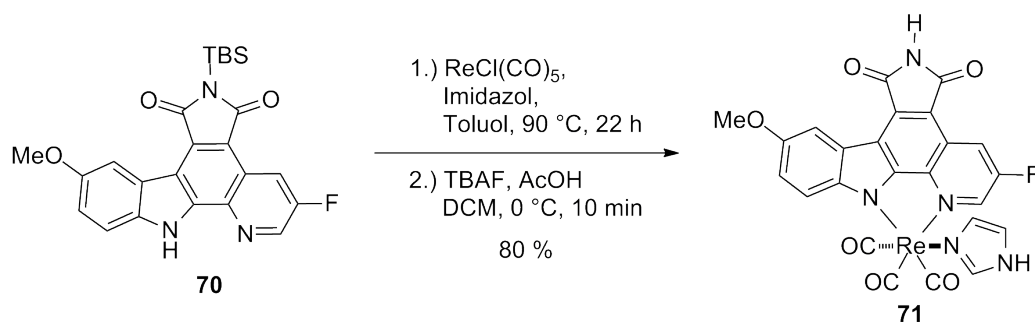


Abb. 3.32: Stabilitätstest des Rhenium(I)-Komplexes **68** (5 mM) in DMSO- d_6 . Selbst nach einer Belichtungszeit von vier Stunden sind keine Änderungen in den ^1H -NMR-Spektren zu erkennen. Nach sechs Tagen und Zugabe von D_2O und 2-Mercaptoethanol (5 mM) zeigt die Verbindung ebenfalls keine Veränderung.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie



Schema 3.16: Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **71**.

Das Absorptionsspektrum von **71** wurde in DMSO im Bereich 270–650 nm bestimmt (Abb. 3.33). Eine Kombination der verschiedenen Substituenten führte zu einer erneuten Erhöhung der maximalen Absorptionswellenlänge. Während Verbindungen **47** mit Methoxygruppe am Indol-Gerüst ein Maximum von $\lambda = 516$ nm und **66** mit einem Fluor-Substituenten am Pyridinring ein Maximum von $\lambda = 528$ nm aufweisen, besitzt **71** ein Maximum von $\lambda = 542$ nm.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, durch welche Effekte eine Verschiebung des Absorptionsspektrums beeinflusst werden kann. Durch Einführung eines Substituenten mit +M-Effekt an der C5-Position des Indolrings und eines Substituenten mit –I-Effekt an der C3-Position des Pyridinrings konnte das Absorptionsmaximum in den längerwelligen

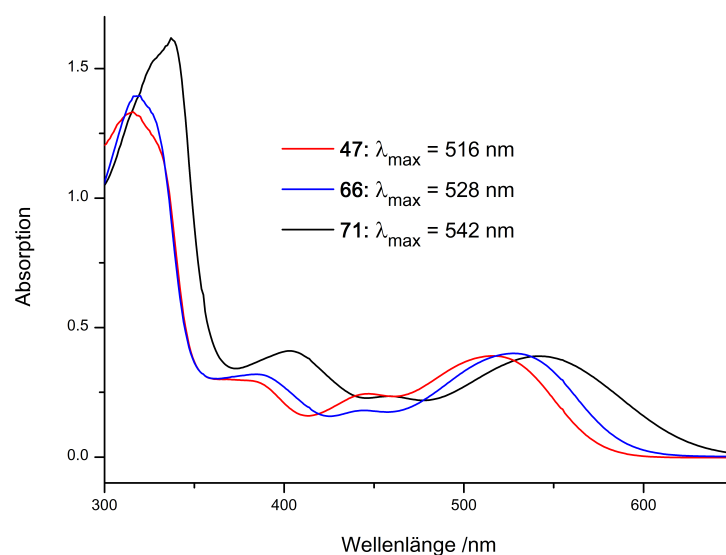


Abb. 3.33: Absorptionsspektrum des Rhenium(I)-Komplexes **71** (60 μM) in DMSO mit Vergleich der Spektren von **47** und **66** im Bereich 270–650 nm.

Bereich verschoben werden. Eine Kombination der beiden Effekte führte zu einer zusätzlichen bathochromen Verschiebung. Weiterhin konnte geklärt werden, dass die am Pyridocarbazol-Liganden durchgeführten Modifikationen keinen Einfluss auf die Stabilität der Rhenium(I)-Komplexe haben.

3.1.4.4. Überprüfung der photozytotoxischen Eigenschaften

Im nächsten Schritt sollte untersucht werden, ob die Modifikationen einen Einfluss auf die photozytotoxischen Eigenschaften der Verbindungen haben. Hierzu wurde zunächst die Singulett-Sauerstoff-Produktion der verschiedenen Rhenium(I)-Komplexe analysiert (Tab. 3.3). Die Einführung eines Substituenten an der C5-Position des Indolringes führte zu einer Verringerung der $^1\text{O}_2$ -Generierung. War hierbei der +M-Effekt vergleichsweise gering, wie bei der Methoxygruppe (**47**), konnte die reaktive Spezies noch nachgewiesen werden. Mit steigendem Absorptionsmaximum hingegen nahm die Fähigkeit der Generierung ab, so dass für die Rhenium(I)-Komplexe mit Hydroxylgruppe (**48**) oder Dimethylamin-Substituent (**61**) keinerlei Singulett-Sauerstoff-Produktion gemessen wurde. Bei einer Modifizierung der C3-Position des Pyridinringes hingegen wurde kein Einfluss auf diese Eigenschaft festgestellt. Trotz größerem –I-Effekt der Trifluormethylgruppe und höherem Absorptionsmaximum des Komplexes generierten beide Verbindungen (**66**, **68**) die reaktive Sauerstoff-Spezies. Verbindung **71**, die eine Methoxygruppe an der C5-Position des Indolringes und einen Fluor-Substituenten an der C3-Position des Pyridinringes besitzt, produzierte zwar noch $^1\text{O}_2$, allerdings in deutlich geringerem Maße als **66** und **68**. Diese Ergebnisse spiegelten sich in den durchgeführten MTT-Viabilitätsassays wider. Produzierten die Verbindungen keinen Singulett-Sauerstoff, war kein Photoeffekt zu beobachten, in den Zellen wurde keine Apoptose eingeleitet. Bei einer Generierung hingegen nahm die Zellviabilität ab und ein Unterschied zwischen belichteten und unbelichteten Zellen konnte festgestellt werden. Warum für die Rhenium(I)-Komplexe **48** und **61** keine Singulett-Sauerstoff gemessen wurde, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden und muss Gegenstand weiterer Forschung sein.

Da Photosensibilisatoren in der photodynamischen Therapie mit einer Wellenlänge von mindestens 600 nm angeregt werden müssen, um eine ausreichende Eindringtiefe in das Tumorgewebe zu erreichen, wurden Verbindungen **66** und **68** auf ihre wellenlängenabhängige

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

Tab. 3.3: Photozytotoxische Eigenschaften verschiedener Rhenium(I)-Komplexe. Die Singulett-Sauerstoff-Produktion der Rhenium(I)-Komplexe ($50\text{ }\mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 wurde nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI bestimmt.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50\text{ }\mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung von 30 Minuten mit einem LED Reflektor verwendet. Für die Bestimmung der Photozytotoxizität der Komplexe in HeLa Zellen wurden sie ($1\text{ }\mu\text{M}$, **61** = $5\text{ }\mu\text{M}$) für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einem LED Reflektor 30–60 Minuten belichtet. Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

Verbindung	$^1\text{O}_2$	Überlebensrate _{unb.} /%	Überlebensrate _{bel.} /%
47	ja	94.4 ± 8.8	7.7 ± 4.2
48	nein	92.7 ± 8.4	94.0 ± 4.7
61	nein	102.8 ± 14.9	105.8 ± 7.0
66	ja	103.4 ± 11.1	1.8 ± 1.2
68	ja	101.4 ± 10.1	7.8 ± 3.3
71	ja	—	—

Photozytotoxizität geprüft. Außerdem wurden der von SANDRA DIECKMANN hergestellte Difluoro-Komplex **43** und Organometallverbindungen **32** und **71** getestet, um mögliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Rhenium(I)-Komplexen aufzuzeigen. Dafür wurden Filter der Firma NEWPORT mit unterschiedlichem Transmissionsbereich verwendet. Zunächst wurde die wellenlängenabhängige Singulett-Sauerstoff-Produktion der Verbindungen untersucht (Abb. 3.34). Nach Belichtung ohne Filter bzw. bei $\lambda \geq 505\text{ nm}$ war kein Unterschied in der Generierung von $^1\text{O}_2$ für die einzelnen Komplexe zu erkennen. Lediglich Verbindung **71** zeigte, wie bereits erwähnt, eine verminderte Generierung der reaktiven Spezies. Erst nachdem die Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes weiter erhöht wurde, traten deutliche Unterschiede auf. So konnte für **43** und **32** bei $\lambda \geq 620\text{ nm}$ die Bildung einer reaktiven Sauerstoff-Spezies nicht mehr detektiert werden. Erstaunlicherweise produzierten **66**, **68** und **71** selbst bei dieser Wellenlänge noch Singulett-Sauerstoff, obwohl ihre Absorptionsbande in diesem Bereich nahe Null ist.

Ob diese Ergebnisse auf die Photozytotoxizität in HeLa Zellen übertragen werden können, wurde im Folgenden überprüft (Abb. 3.35). Hierbei war zunächst auffällig, dass

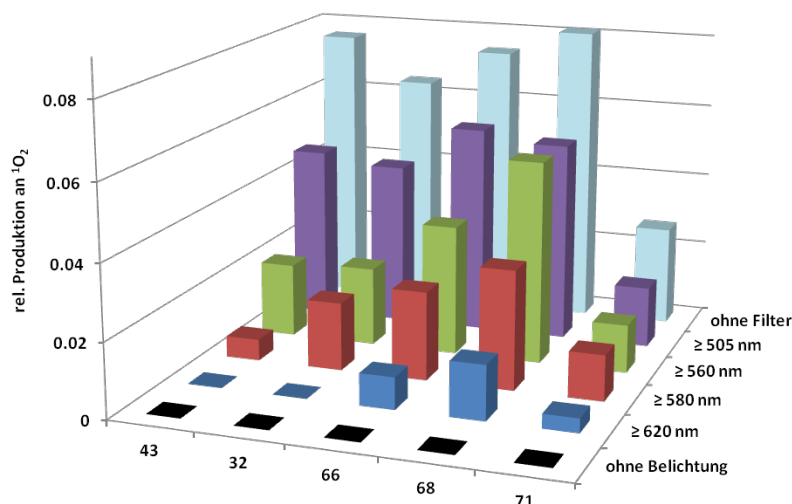


Abb. 3.34: Singulett-Sauerstoff-Produktion der Rhenium(I)-Komplexe **32**, **43**, **66**, **68** und **71** ($50 \mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50 \mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung von 60 Minuten mit einem LED Reflektor unter Benutzung verschiedener Filter verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten.

Verbindung **68** mit einer Trifluormethylgruppe am Pyridocarbazol-Liganden trotz höherer Singulett-Sauerstoff-Produktion generell eine geringere Zytotoxizität aufwies als **66** mit einem Fluor-Substituenten. Dieser Effekt muss demnach auf die Lokalisierung der Rhenium(I)-Komplexe innerhalb der Zelle zurückzuführen sein. Die sterisch anspruchsvolle Trifluormethylgruppe verhinderte wahrscheinlich eine Anlagerung an die relevanten Positionen, so dass generell in weniger Zellen Apoptose eingeleitet wurde.

Die Ergebnisse der Singulett-Sauerstoff-Produktion spiegelten sich in denen des MTT-Viabilitätsassays wider. Die Überlebensrate der Zellen war nach Belichtung ohne Filter, bzw. mit Filter der Wellenlänge $\lambda \geq 505 \text{ nm}$ für alle Verbindungen vergleichbar. Bereits bei $\lambda \geq 560 \text{ nm}$ zeigte Komplex **43** allerdings keinen photozytotoxischen Effekt mehr. Bei $\lambda \geq 620 \text{ nm}$ war keine der untersuchten Verbindungen trotz Singulett-Sauerstoff-Produktion unter den gegebenen Bedingungen photozytotoxisch.

Da für **66** und **68** eine Generierung von $^1\text{O}_2$ bei $\lambda \geq 620 \text{ nm}$ nachgewiesen wurde, sollte es möglich sein, mit rotem Licht Apoptose in den Zellen einleiten zu können. Daher wurde die Photozytotoxizität erneut bei $\lambda \geq 620 \text{ nm}$ nach längerer Belichtungszeit und

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

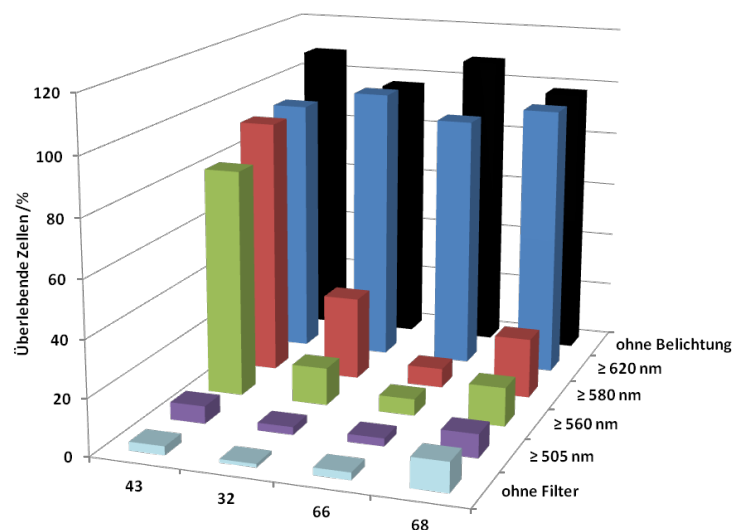


Abb. 3.35: Wellenlängenabhängige Photozytotoxizität der Rhenium(I)-Komplexe **32**, **43**, **66** und **68** in HeLa Zellen. Die Komplexe ($1 \mu\text{M}$) wurden für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einem LED Reflektor unter Verwendung verschiedener Filter 30 Minuten belichtet. Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

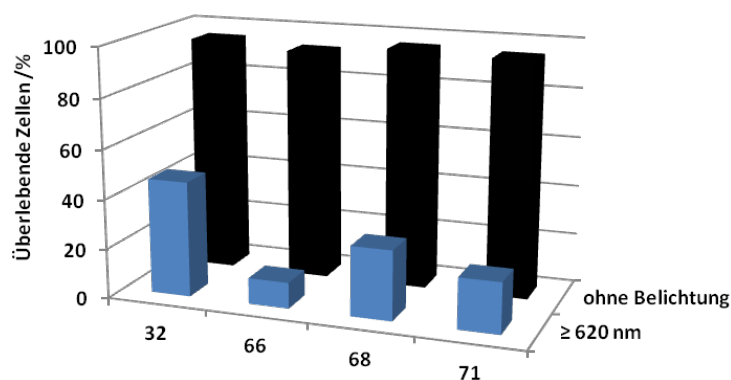


Abb. 3.36: Wellenlängenabhängige Photozytotoxizität der Rhenium(I)-Komplexe **32**, **66**, **68** und **71** in HeLa Zellen. Die Komplexe ($5 \mu\text{M}$) wurden für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einem LED Reflektor 60 Minuten belichtet ($\lambda \geq 620 \text{ nm}$). Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

höherer Konzentration der Verbindungen geprüft (Abb. 3.36). In diesem Fall wurde die Zellviabilität der HeLa Zellen nach Zugabe von **43** nicht bestimmt, da die Verbindung bereits bei $\lambda \geq 560$ nm keine photozytotoxischen Eigenschaften mehr aufwies. Allerdings wurde **71** in die Messreihe aufgenommen, da der Komplex mit $\lambda = 542$ nm ein hohes Anregungsmaximum hat und in diesem Bereich ebenfalls Singulett-Sauerstoff generiert. Die Ergebnisse des MTT-Viabilitätsassays zeigten, dass unter diesen Bedingungen Apoptose in den Zellen eingeleitet wurde. Verbindung **66** lieferte mit einem Zellüberleben von lediglich 10.47 ± 1.59 % die besten Ergebnisse. Rhenium(I)-Komplex **71** zeigte ebenfalls photozytotoxische Eigenschaften, weshalb er bei hohen Wellenlängen eine sinnvolle Alternative darstellt. Erstaunlich ist, dass für **32** eine Zellviabilität von lediglich 46.48 ± 4.87 % gemessen wurde. Da die generierte Menge an Singulett-Sauerstoff bei hohen Wellenlängen relativ gering ist, ist eine Unterscheidung zwischen belichteter und unbelichteter Probe schwierig, weshalb hier der Nachweis an seine Grenzen gelangt.

In diesem Kapitel konnte gezeigt werden, dass eine Optimierung des Absorptionsmaximums durch Modifikation des Pyridocarbazol-Liganden möglich ist. Hierbei hat sich Rhenium(I)-Komplex **66** hervorgetan, da diese Verbindung selbst bei einer Wellenlänge von $\lambda \geq 620$ nm und einer Konzentration von $5 \mu\text{M}$ Apoptose in den Zellen einleitete. Daher ist die Anregungswellenlänge der Verbindung vergleichbar mit der des bereits als Medikament zugelassenen Photosensibilisators Photofrin.

Aus diesem Grund wurde für **66** der EC_{50} -Wert nach Belichtung von 30 Minuten mit Licht der Wellenlänge $\lambda \geq 580$ nm im Vergleich zur Dunkeltoxizität bestimmt (Abb. 3.37). Selbst bei dieser hohen Anregungswellenlänge besitzt die Verbindung einen EC_{50} -Wert von 300 nM, was nur geringfügig schlechter ist als für den von SANDRA DIECKMANN hergestellten Komplex **19** (EC_{50} (belichtet) = 100 nM, vgl. Abb. 3.2). Der EC_{50} -Wert von **66** im Dunkeln liegt bei $10 \mu\text{M}$. Diese Verbesserung um den Faktor 10 wurde auf Löslichkeitsprobleme während der Messung von Komplex **19** (EC_{50} (unbelichtet) = $100 \mu\text{M}$) zurückgeführt. Während sich bei **19** ab einer Konzentration von $10 \mu\text{M}$ ein Präzipitat bildete, wurde dies bei **66** nicht festgestellt. Die Verbindung war selbst bei einer Konzentration von $100 \mu\text{M}$ im Reaktionsmedium (1 % DMSO) noch vollständig löslich.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass durch verschiedene Modifikationen am Pyridocarbazolring eine Optimierung des Absorptionsmaximums möglich war, ohne dass

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

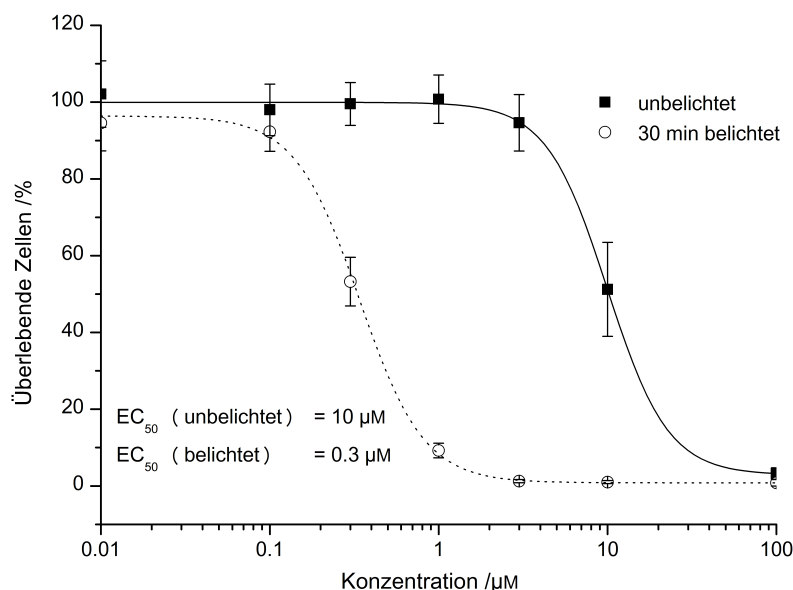


Abb. 3.37: Lichtinduzierte, antiproliferative Aktivität des Rhenium(I)-Komplexes **66** in HeLa Zellen.

Experimentelle Angaben: Eine Stunde nach Zugabe der Verbindung wurden die Zellen mit einem LED Reflektor für 30 Minuten bei einer Wellenlänge von $\lambda \geq 580$ nm belichtet. Die Zytotoxizität wurde nach weiteren 24 Stunden mittels MTT-Viabilitätsassay bestimmt. Die Standardabweichungen beruhen auf zwei unabhängigen Messungen mit insgesamt 18 Messpunkten für jede Konzentration.

die Stabilität der Verbindungen beeinflusst wurde. Die Einführung eines Substituenten mit +M-Effekt an der C5-Position des Indolrings führte allerdings zu einem Verlust der photozytotoxischen Eigenschaften, während Modifizierungen mit einem Substituenten mit –I-Effekt an der C3-Position des Pyridinrings keinen Einfluss auf diese Eigenschaften hatten. So konnte Rhenium(I)-Komplex **66** als beste Verbindung identifiziert werden, da sie sogar noch bei $\lambda \geq 620$ nm und einer Konzentration von $5 \mu\text{M}$ in nahezu allen Zellen Apoptose einleitete.

3.1.5. Lokalisation der Rhenium(I)-Komplexe

Um einen Einblick zu bekommen, welche Mechanismen nach Zugabe und Belichtung der Verbindungen in der Zelle für die Einleitung des Zelltodes ablaufen, wurden weitere Studien durchgeführt. Es wurde vermutet, dass der Aufenthaltsort der Verbindungen aufgrund ihres lipophilen Charakters in der Zell- bzw. der Mitochondrienmembran wahrscheinlich ist. Daher wurde der Einfluss des ebenfalls lipophilen Antioxidationsmittels α -Tocopherol

nach dessen Gabe auf die Überlebensrate der Zellen untersucht.^[112] Es ist bekannt, dass sich diese Verbindung in den Membranen der Zelle anlagert und so oxidative Schäden durch Lipidperoxidation verhindert, die sowohl durch freie Radikale als auch Singulett-Sauerstoff eingeleitet werden kann.^[129, 130]

In Anwesenheit von α -Tocopherol ($200\ \mu\text{M}$) wurde daher die Zellviabilität von HeLa Zellen nach Gabe von Imidazol-Komplex **32** bestimmt und mit der ohne Antioxidationsmittel verglichen (Abb. 3.38). **32** wurde gewählt, weil es sich um eine stabile Verbindung handelt, die als Testsystem fungieren kann. Nach einer Belichtungszeit von 30 Minuten wurde für das Kontrollergebnis lediglich ein Zellüberleben von $9.5 \pm 5.3\%$ erkannt. Durch die Zugabe von α -Tocopherol stieg dieser Wert deutlich an ($67.1 \pm 8.5\%$), womit eine Reduktion des lichtinduzierten, photozytotoxischen Effektes gezeigt wurde.

Dies kann dadurch erklärt werden, dass die durch Singulett-Sauerstoff entstandenen Peroxylradikale schneller mit α -Tocopherol als mit den benachbarten ungesättigten Fettsäuren der Membran reagierten, wodurch die Reaktionskette der Lipidperoxidation unterbrochen wurde. Das generierte α -Tocopherol-Radikal ist mesomeriestabilisiert und dadurch deutlich weniger reaktiv als Peroxylradikale und kann durch Reaktion mit Vitamin C abgebaut werden.^[131, 132] Diese Ergebnisse legen nahe, dass die Photozytotoxizität der

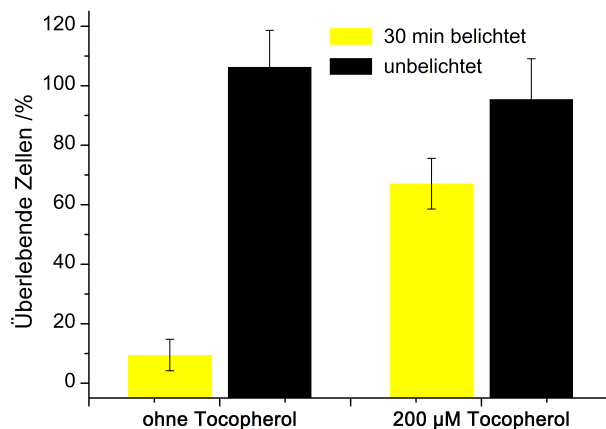


Abb. 3.38: Einfluss von α -Tocopherol auf den photozytotoxischen Effekt von Komplex **32**. HeLa Zellen wurden in Anwesenheit von α -Tocopherol für 24 Stunden kultiviert. Im Anschluss wurde **32** für eine Stunde inkubiert und mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe ($\lambda \geq 505\ \text{nm}$) für 30 Minuten belichtet. Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindung bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

Rhenium(I)-Verbindungen auf einer Membranschädigung durch Lipidperoxidation beruht. Um weitere Erkenntnisse über die in den Zellen ablaufenden Prozesse zu gewinnen, wurde die Aktivität verschiedener Caspasen (*Cysteinyll aspartate-specific proteinases*) nach photodynamischer Behandlung gemessen. Diese werden in apoptotischen Zellen aktiviert, da sie an der Einleitung und Umsetzung des zellulären Abbaus beteiligt sind.^[133] In der Doktorarbeit von ANJA LUDEWIG wurde bereits gezeigt, dass eine Aktivierung der Caspasen 3 und 7 in HeLa Zellen stattfand.^[112]

Eine Untersuchung des zeitlichen Ablaufes der Aktivierung sollte dabei Rückschlüsse auf den Apoptosesignalweg liefern. Hierbei können mehrere Möglichkeiten unterschieden werden, die hauptsächlich von der Lokalisation des Photosensibilisators abhängen.^[134] Die Caspasen 3 und 7 werden von den Initiator-Caspasen 8 und 9 aktiviert. Ist der PS in den Mitochondrien lokalisiert, führt dies zur Ausschüttung des Proteins Cytochrom c, welches Caspase 9 aktiviert. Dieser Signalweg wird intrinsischer Apoptosevorgang genannt.^[135] Beim extrinsischen Signalweg wird Caspase 8 über TNF- und Fas-Rezeptoren der Plasmamembran aktiviert. Allerdings ist auch eine rückgekoppelte Aktivierung der Caspase 8 durch Caspase 3 bekannt.^[136–138] Eine Klärung, welche der beiden Caspasen durch den Rhenium(I)-Komplex zuerst aktiviert wird, sollte daher Rückschlüsse liefern, welcher Apoptosesignalweg eingeleitet wird.

Die Ergebnisse zeigten, dass Caspase 8 erst nach 2.5 Stunden in ihrer Aktivität anstieg, während Caspasen 3 und 7 direkt nach einer Belichtung von 30 Minuten aktiv waren.^[112] Dies bedeutet, dass Apoptose nicht über die TNF- und Fas-Rezeptoren in der Plasmamembran, sondern über den intrinsischen Mitochondrien-gekuppelten Signalweg eingeleitet wird.

Für zusätzliche Hinweise wurde außerdem das mitochondriale Membranpotential ($\Delta\Psi_m$) der Zellen untersucht. Mitochondrien besitzen Protonenpumpen, die zu einem starken H^+ -Gradienten entlang ihrer inneren Membran führen, welcher wichtig für die Aufrechterhaltung der Energieversorgung der Zelle ist. In Folge der photodynamischen Therapie ist es bekannt, dass dieser Gradient zusammenbricht, was zur Einleitung von Apoptose führt.^[55] Die Ursache dafür ist noch nicht eindeutig geklärt.^[139] Der Verlust des Membranpotentials $\Delta\Psi_m$ führt immer zu einer Ausschüttung von Cytochrom c, ist dafür aber nicht unbedingt notwendig.^[140]

Ob es auch nach Behandlung der Zellen mit den Rhenium(I)-Komplexen zu einem Zusammenbruch des mitochondrialen Membranpotentials und damit zur Aktivierung der Caspase 9 kommt, wurde im Folgenden überprüft.^[112] Hierbei wurde festgestellt, dass drei Stunden nach Behandlung der Zellen $\Delta\Psi_m$ noch größtenteils intakt war. Erst nach fünf Stunden konnte ein Zusammenbruch erkannt werden. Da eine Aktivierung der Caspasen 3 und 7 deutlich schneller stattfand, konnte diese keine Folge des Verlustes des Membranpotentials sein. Vielmehr scheint dies auf die bereits eingeleitete Apoptose zurückgeführt werden zu können. Die Rhenium(I)-Verbindungen können demnach nicht für eine Störung des H^+ -Gradienten verantwortlich sein.

Eine weitere Möglichkeit, welche in der PDT bekannt ist und wie Apoptose in den Zellen eingeleitet werden kann, ist die Zerstörung der Lysosomen. Die Photosensibilisatoren werden endosomal aufgenommen und schädigen die Membran des Organells. Dadurch werden die eingeschlossenen Proteasen freigesetzt, welche möglicherweise Procaspasen spalten und dadurch den Zelltod einleiten.^[141–143]

Um genauer klären zu können, welche Prozesse in den Zellen durch die Belichtung der Rhenium(I)-Komplexe ausgelöst werden, sollten diese lokalisiert werden. Da eine Eigenlumineszenz bzw. -fluoreszenz der Verbindungen nicht gegeben war, mussten sie mit einem Marker versehen werden, welcher durch Fluoreszenzmikroskopie detektiert werden konnte. Gleichzeitig durfte dieser aber nicht die photozytotoxischen Eigenschaften der Komplexe verändern. Hierbei kamen zum einen Fluorophore oder zum anderen Biotin in Frage, welche über einen Linker mit dem Komplex verbunden werden konnten. In dieser Arbeit wurde sich auf Biotin als Marker konzentriert, da seine Handhabung gegenüber Fluorophoren einfacher ist und es in größeren Mengen günstig käuflich erworben werden kann. Für die Verknüpfung des Linkers mit dem Rhenium(I)-Komplex kamen verschiedene Positionen in Frage. Eine Möglichkeit war die Markierung des Pyridocarbazol-Liganden. Dies hatte allerdings die Nachteile, dass solche Modifikationen möglicherweise zu einem Verlust der photozytotoxischen Eigenschaften führen könnten, falls eine Singulett-Sauerstoff-Produktion nicht mehr möglich ist. Außerdem lag die Vermutung nahe, dass die Komplexe innerhalb einer Membran lokalisiert sind, weshalb eine so deutliche Änderung des Pyridocarbazol-Systemes durch das relativ polare Biotin-Molekül möglicherweise zu einer anderen Lokalisierung in der Zelle führen könnte. Des Weiteren bedeutete dies einen

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

großen synthetischen Aufwand, da eine nachträgliche Modifizierung des Liganden sich als schwierig darstellte. Eine weitere Möglichkeit war die Markierung des monodentaten Liganden (Abb. 3.39). Die Vorteile hierbei wären, dass die Singulett-Sauerstoff-Produktion ebenso wie die Lokalisation nicht beeinflusst werden sollten. Der Ligand war synthetisch ebenfalls in wenigen Schritten zugänglich.

In diesem Zusammenhang wurden in der Arbeitsgruppe LO bereits eine Reihe von Rhenium(I)-Polypyridin-Komplexen synthetisiert, welche über den Pyridin-Liganden durch verschiedene Linker mit Biotin verknüpft sind.^[144] Es kommen hierbei einige Linker in Frage, wobei in dieser Arbeit auf py-4-CH₂-NH-cap-NH-biotin (**76**) zurückgegriffen wurde, um einen möglichst großen Abstand zwischen Rhenium(I)-Komplex und Biotin zu erreichen. Der Einfluss von Biotin auf die Lokalisierung sollte demnach minimiert sein. Die Darstellung des Biotin-markierten Pyridin-Liganden **76** ist bereits in der Literatur beschrieben und wurde durch Reaktion von 4-Aminomethylpyridin (**75**) und Biotinamidohexansäure-*N*-hydroxysuccinimidester (**74**) in DMF bei Raumtemperatur synthetisiert (Schema 3.17).^[145]

Um klären zu können, warum der einfach positiv geladene Bipyridin-Komplex **23** trotz Singulett-Sauerstoff-Produktion nicht photozytotoxisch ist, sollte dieser ebenfalls in den Zellen lokalisiert werden. Eine Lokalisation in der Membran ist aufgrund der positiven Ladung unwahrscheinlich. Außerdem können auf diese Weise Unterschiede zwischen **23** und den Rhenium(I)-Pyridocarbazol-Komplexen gezeigt werden.

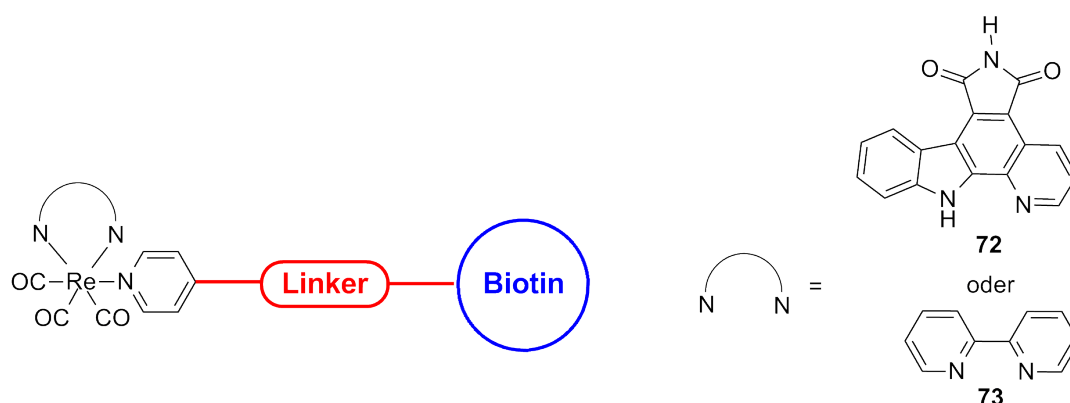
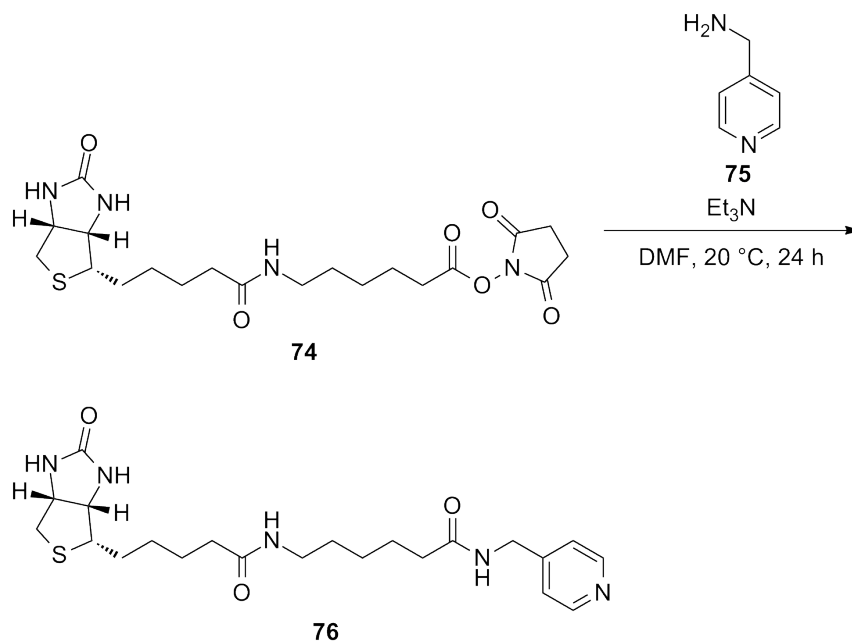
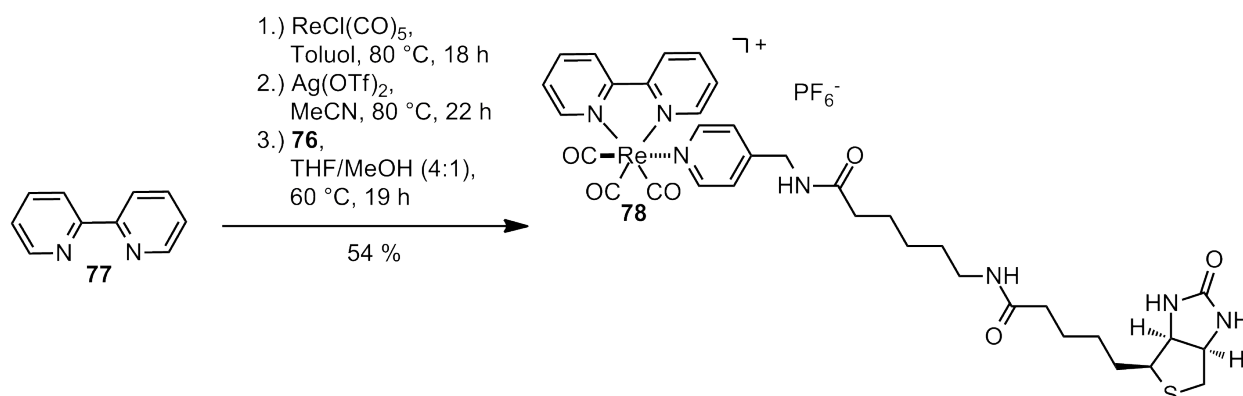


Abb. 3.39: Modell für die Darstellung der Biotin-markierten Rhenium(I)-Komplexe **72** und **73**. Biotin ist über einen Linker mit dem monodentaten Liganden verbunden.



Schema 3.17: Darstellung des Biotin-markierten Pyridin-Liganden **76**.

In einem Forschungspraktikum von JILLIAN JESPERSEN wurde Verbindung **78** analog zu einer in der Literatur beschriebenen Vorschrift dargestellt (Schema 3.18).^[146] Nach Umsatz des Rhenium(I)-Vorläufers mit 2,2'-Bipyridin (**77**) wurde der Chlorid-Ligand durch das Lösungsmittel Acetonitril unter Verwendung eines Triflat-Gegenions ausgetauscht. Im nächsten Schritt wurde Biotin-Ligand **76** hinzugegeben, welcher aufgrund seiner größeren Stabilität statt Acetonitril an das Metallzentrum koordiniert. Nach Austausch des Gegenions gegen ein Hexafluorophosphat-Ion wurde schließlich **78** mit einer Ausbeute von 54 % erhalten.



Schema 3.18: Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **78**.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

Im Anschluss wurde **78** auf seine photozytotoxischen Eigenschaften geprüft (Abb. 3.40). Trotz der Modifizierung produzierte die Verbindung nach einer Belichtung von 30 Minuten immer noch Singulett-Sauerstoff. Weiterhin wurde festgestellt, dass selbst bei einer Konzentration von $5\text{ }\mu\text{M}$ kein photozytotoxischer Effekt in HeLa Zellen zu beobachten war. Es gab keinen Unterschied zwischen belichteter und unbelichteter Probe.

Aufgrund der Ergebnisse der Photozytotoxizitätsmessungen des Rhenium(I)-Komplexes **78** war es möglich, diesen als Negativkontrolle für Lokalisierungsexperimente zu verwenden. In weiteren Versuchen sollte die Biotin-markierte Pyridocarbazol-Verbindung dargestellt werden. Hierbei wurden sowohl der entschützte als auch der Benzyl-geschützte Pyridocarbazol-Ligand verwendet, um mögliche Unterschiede in der Polarität der Verbindungen festzustellen. Eine Darstellung der Verbindungen *in situ* war allerdings nicht möglich, da Biotin-Ligand **76** in Toluol, was für die Reaktion als Lösungsmittel genutzt wurde, nicht löslich war (Schema 3.19).

Aus diesem Grund wurde auf die zweistufige Synthese, welche bereits für Phosphin-Komplex **37** Verwendung fand, zurückgegriffen. Zunächst wurde Trifluormethylpyridin-

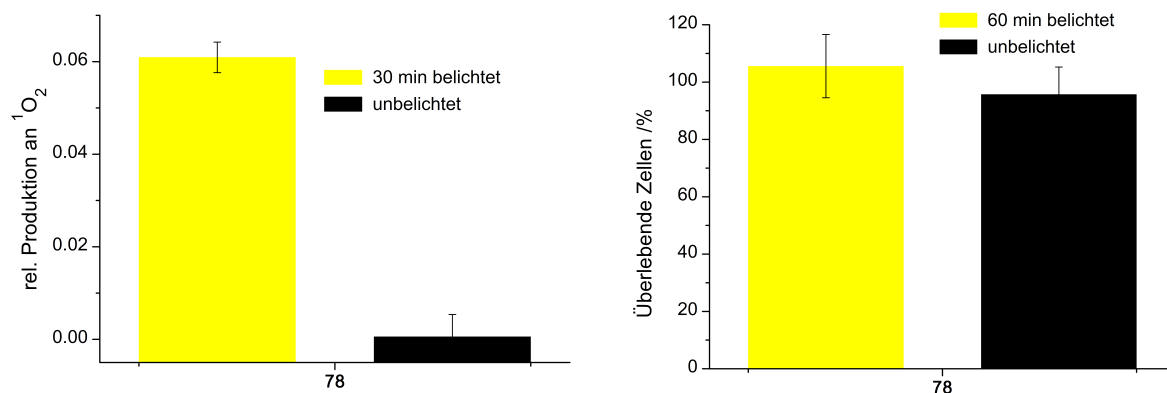
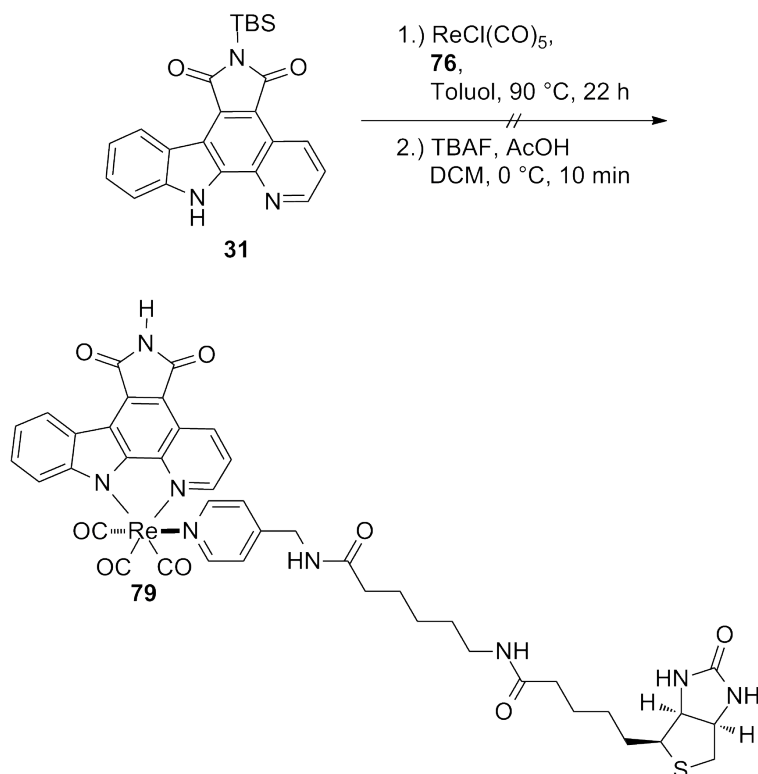


Abb. 3.40: Links: Singulett-Sauerstoff-Produktion des Rhenium(I)-Komplexes **78** ($50\text{ }\mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50\text{ }\mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung von 30 Minuten mit einem LED Reflektor verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten. Rechts: Photozytotoxizität des Rhenium(I)-Komplexes **78** in HeLa Zellen. Der Komplex ($5\text{ }\mu\text{M}$) wurde für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einem LED Reflektor 60 Minuten belichtet. Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

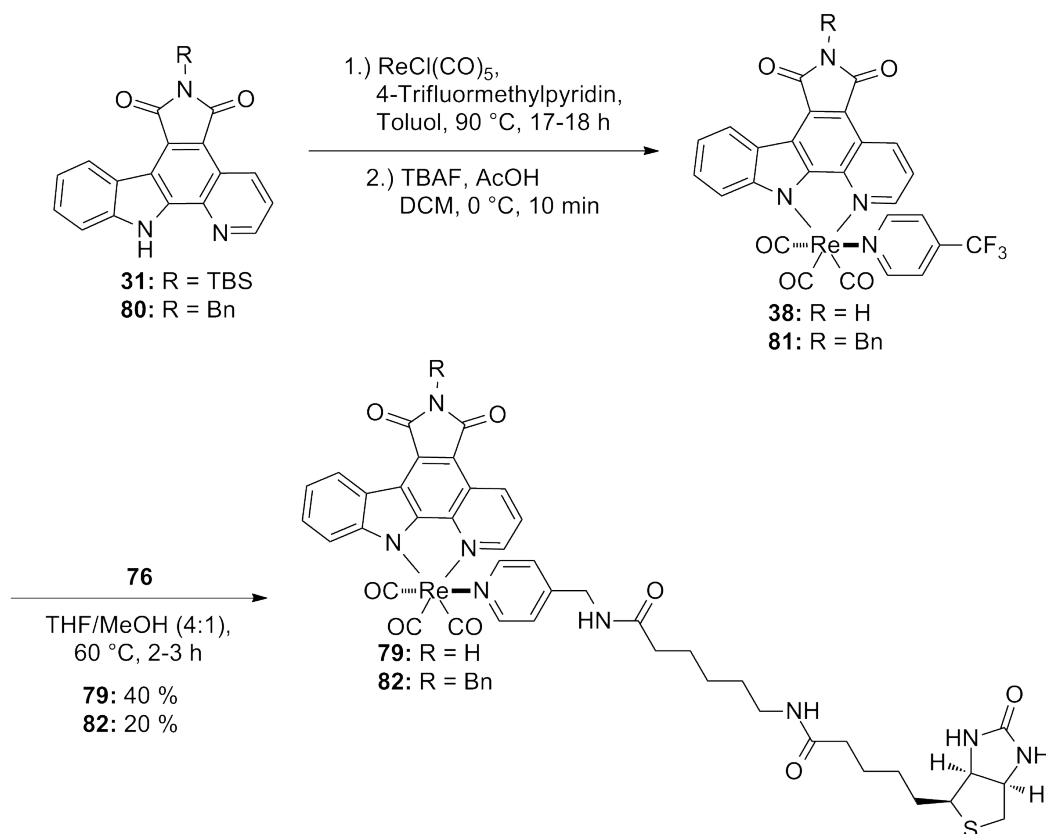


Schema 3.19: Versuch der Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **79**.

Komplex **38** bzw. das Benzyl-geschützte Analogon **81** dargestellt. Die anschließende Umsetzung mit Biotin-Ligand **76** in THF/Methanol (4:1) lieferte Verbindungen **79** und **82** als Diastereomeren-Gemische (Schema 3.20). Eine Trennung dieser Gemische war nicht erforderlich, da die unterschiedlichen Diastereomere keinen Einfluss auf die Singulett-Sauerstoff-Produktion bzw. die Lokalisierung in der Zelle haben sollten.

Da in diesem Fall als monodentater Ligand ein modifizierter Pyridinring vorliegt, welcher elektronenärmer als der Imidazol-Ligand ist, sollte dieser Komplex in seiner Stabilität beeinträchtigt sein. Um einen Eindruck über die Photostabilität von **79** zu bekommen, wurde dieser unter Zusatz von 4-Dimethylaminopyridin in DMSO- d_6 gelöst und für mehrere Stunden belichtet (Abb. 3.41). Im Vergleich zur Anfangsprobe war nach einer Belichtungszeit von vier Stunden ein zweiter Signalsatz mit einer Intensität von etwa 30 % im Ausschnitt des ^1H -NMR-Spektrums zu erkennen, welcher auf eine Photodissoziation des monodentaten Liganden schließen lies. Wurde die Probe im Dunkeln aufbewahrt, war kein Austausch zu erkennen. Da für die Untersuchung der photozytotoxischen Eigenschaften eine deutlich kürzere Belichtungszeit nötig war, bzw. die Lokalisationsexperimente im

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie



Schema 3.20: Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe **79** und **82**.

Dunkeln durchgeführt wurden, war trotzdem eine ausreichende Stabilität für weitere Versuche gegeben.

Im Anschluss an die Stabilitätsmessungen wurde untersucht, ob die Einführung des Biotin-markierten Liganden **76** einen Einfluss auf die photozytotoxischen Eigenschaften hat. Dazu wurden von **79** und **82** sowohl die Singulett-Sauerstoff-Produktion als auch die Viabilität von HeLa Zellen mittels MTT-Viabilitätsassay bestimmt (Abb. 3.42). Die Einführung des Liganden hatte keinen Einfluss auf die Generierung von $^1\text{O}_2$. Da allerdings davon auszugehen war, dass der photozytotoxische Effekt aufgrund der Modifizierung und dem damit verbundenen sterischen Anspruch der Verbindung in den Zellen deutlich geringer ausfällt, wurden die Rhenium(I)-Komplexe in diesem Fall bei einer Konzentration von $5\ \mu\text{M}$ getestet. Trotz der Konzentrationserhöhung war der Effekt schwächer ausgeprägt. Für **79** wurde ein Zellüberleben von $20.4 \pm 5.4\ \%$ erkannt, was auf die höhere Polarität der Verbindung zurückzuführen war. Bereits bei der Aufarbeitung der Verbindung zeigte sich, dass diese durch den Linker und Biotin wesentlich hydrophiler war. Dass die Polarität

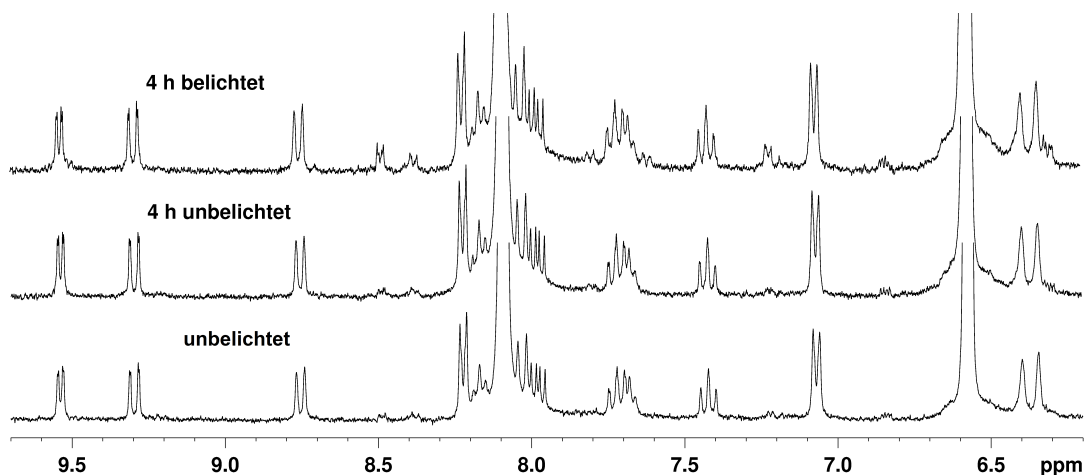


Abb. 3.41: Stabilitätstest des Rhenium(I)-Komplexes **79** (5 mM) in DMSO- d_6 nach Zugabe von 4-Dimethylaminopyridin (10.0 eq). Nach einer Belichtung von vier Stunden mit einem LED Reflektor konnte ein zweiter Signalsatz mit etwa 30 % Intensität im ^1H -NMR-Spektrum erkannt werden. Ohne Belichtung ist nur eine minimale Veränderung sichtbar.

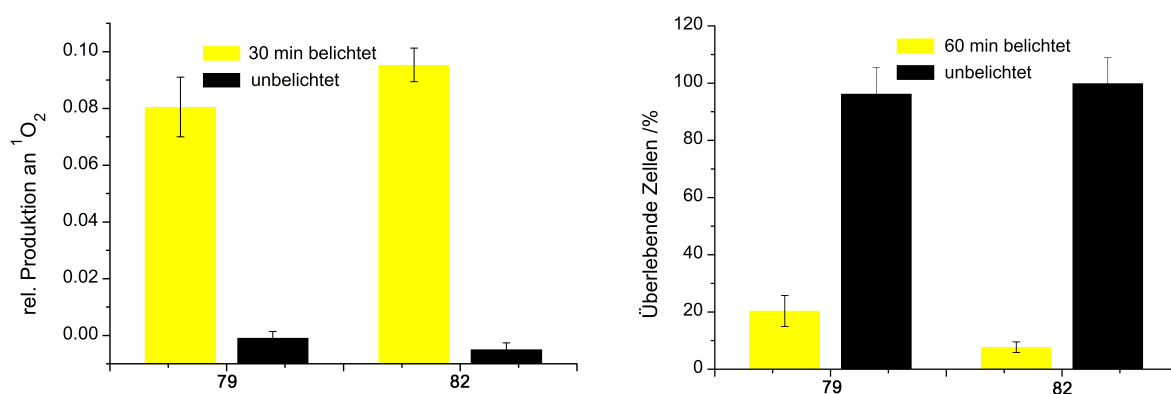


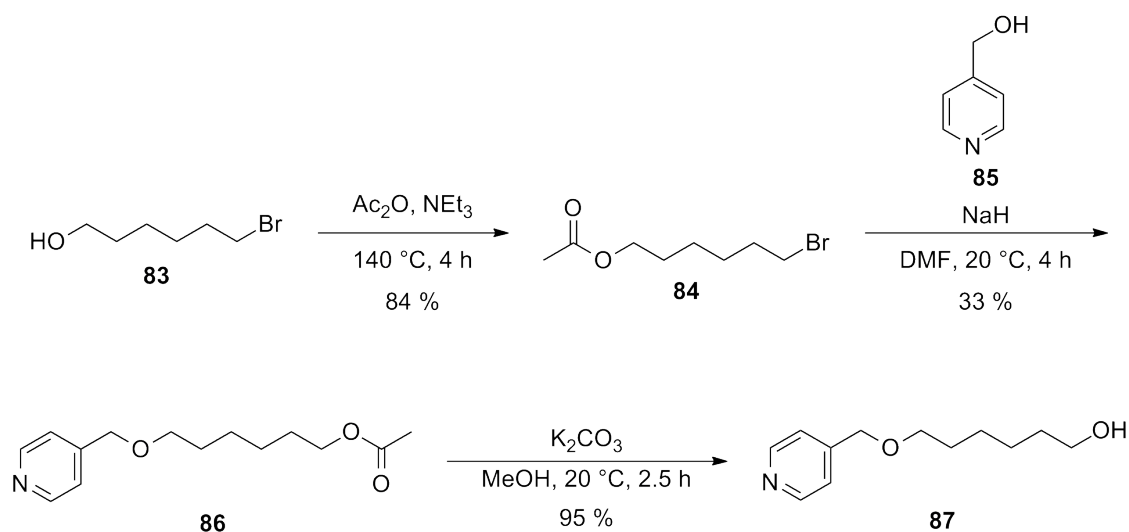
Abb. 3.42: Links: Singulett-Sauerstoff-Produktion der Rhenium(I)-Komplexe **79** und **82** ($50\ \mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50\ \mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung von 30 Minuten mit einem LED Reflektor verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten. Rechts: Photozytotoxizität der Rhenium(I)-Komplexe **79** und **82** in HeLa Zellen. Die Komplexe ($5\ \mu\text{M}$) wurden für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einem LED Reflektor 60 Minuten belichtet. Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

ursächlich für die Verschlechterung war, verdeutlichten die Ergebnisse von **82**. Durch die Benzyl-Schutzgruppe war die Verbindung weniger polar, wodurch ein Zellüberleben von lediglich $7.7 \pm 1.9 \%$ gemessen wurde.

Der photozytotoxische Effekt der Verbindungen **79** und **82** in HeLa Zellen war noch vorhanden, allerdings unter gleichen Bedingungen wesentlich schlechter ausgeprägt als bei anderen Rhenium(I)-Komplexen. Grund dafür war die hohe Hydrophilie des Biotin-markierten Pyridin-Liganden **76**. Durch Modifikationen des Systemes war eine Verbesserung aber möglich. Biotin selber konnte nicht verändert werden, da es ansonsten seine Affinität zu Avidin verlieren würde. Daher mussten Variationen am Linker durchgeführt werden. Eine relativ einfache Modifikation war die der Länge. Durch Vergrößerung des Abstandes zwischen Biotin-Molekül und Rhenium(I)-Zentrum sollte der gegenseitige Einfluss abgeschwächt werden. Außerdem waren die beiden Amid-Bindungen relativ polar, weshalb ein Austausch dieser ebenfalls zu einer geringeren Hydrophilie führte. Hierbei kamen allerdings nur funktionelle Gruppen in Frage, welche auch in der Zelle stabil sind. Ein Ersatz durch z. B. Ester-Bindungen schied daher aus, weil diese von Esterasen zu leicht gespalten werden können. Als Alternative wurden Ether-Bindungen in Betracht gezogen, da diese recht unpolar und schwer zu spalten sind.

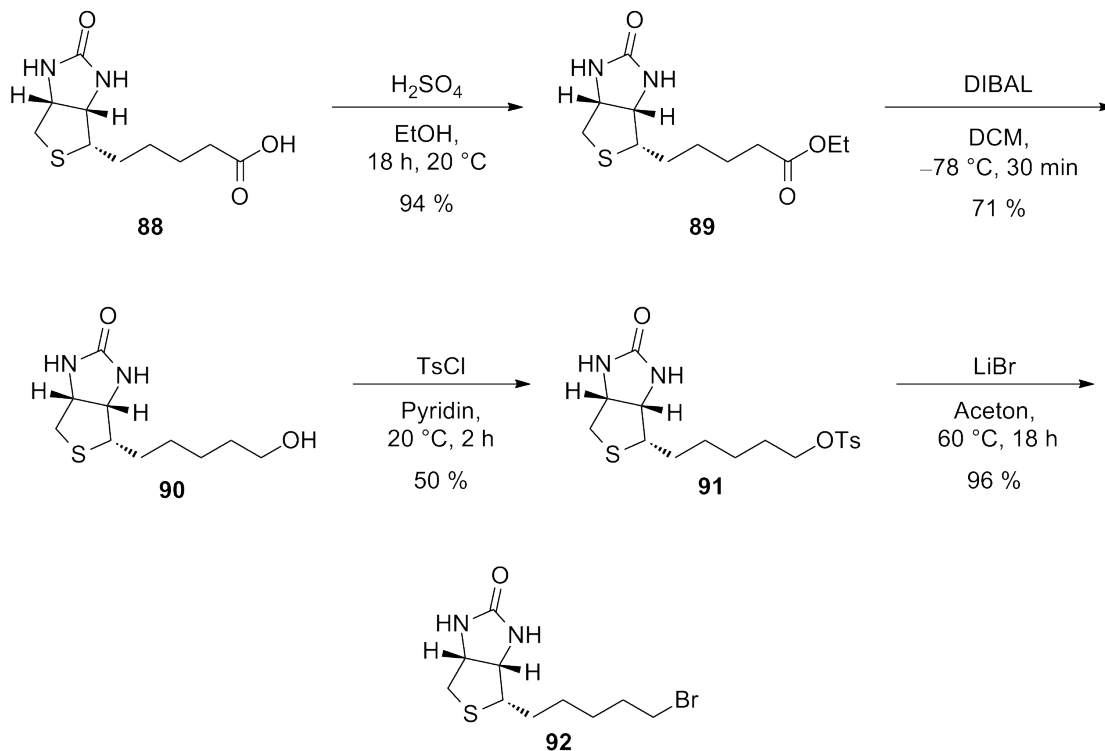
Ausgehend von 4-Pyridinmethanol (**85**) sollte zunächst Ether **87** durch Reaktion mit 6-Bromhexan-1-ol (**83**) analog zu einer Vorschrift aus der Arbeitsgruppe CHANG in einem



Schema 3.21: Darstellung des Ethers **87** über drei Stufen.

Schritt dargestellt werden.^[147] Allerdings konnte das gewünschte Produkt nicht isoliert werden. Da möglicherweise die freie Hydroxylgruppe des Alkohols **83** zu Nebenreaktionen führte, wurde diese zunächst unter Standardbedingungen mit Essigsäureanhydrid verestert (Schema 3.21). Ester **84** wurde dann nach vorheriger Deprotonierung des Pyridin-Derivates **85** mit Natriumhydrid umgesetzt, so dass Verbindung **86** nach säulenchromatographischer Reinigung mit einer Ausbeute von 33 % erhalten wurde. Die Schutzgruppe des Alkohols wurde durch Umsatz mit Kaliumcarbonat wieder entfernt.

Für den finalen Biotin-markierten Pyridin-Liganden musste in einem zweiten Schritt Biotin (**88**) so modifiziert werden, dass es in einer anschließenden Reaktion mit **89** umgesetzt werden konnte. Diese Sequenz ist bereits in der Literatur beschrieben und wurde analog zu den bekannten Vorschriften durchgeführt (Schema 3.22).^[148, 149] Ausgehend von **88** wurde zunächst die Carboxylatgruppe über den Ester **89** mit DIBAL zu Alkohol **90** reduziert. Da es sich bei der Hydroxylgruppe um eine schlechte Abgangsgruppe handelt, wurde Tosylat **91** dargestellt. Durch Umsatz mit Lithiumbromid wurde schließlich **92** in guter Ausbeute erhalten.

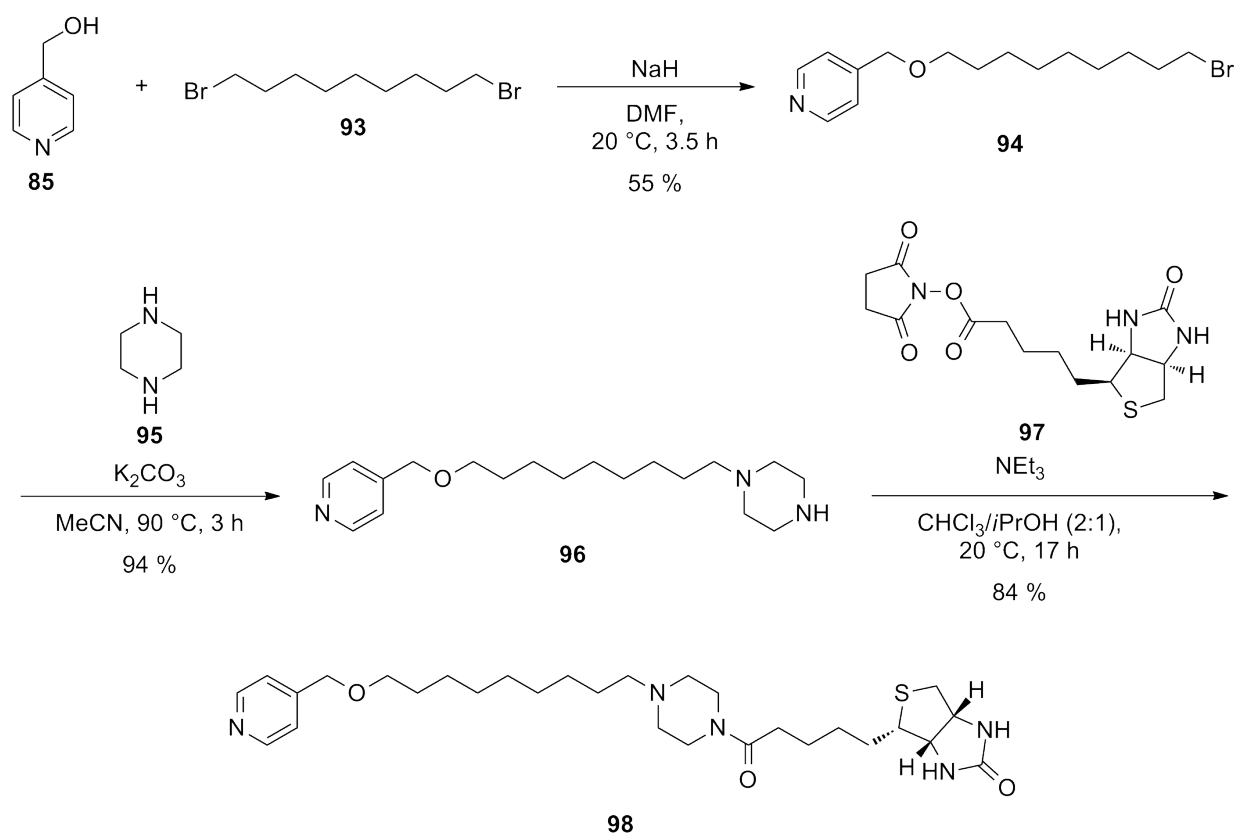


Schema 3.22: Reduktion von Biotin (**88**) mit anschließender Substitution zu Verbindung **92**.^[148, 149]

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

Die Ethersynthese der beiden Bausteine **87** und **92** führte hingegen nicht zum Erfolg. Die eingesetzte Base, welche die Hydroxylgruppe des Pyridin-Derivates **87** deprotonieren sollte, um deren Nukleophilie zu erhöhen, reagierte stattdessen mit dem Harnstoff der Biotin-Einheit. Eine vorherige Schützung der beiden Stickstoffe war ebenfalls nicht möglich, weshalb nach einer Alternative bezüglich des Biotin-markierten Pyridin-Liganden gesucht wurde.

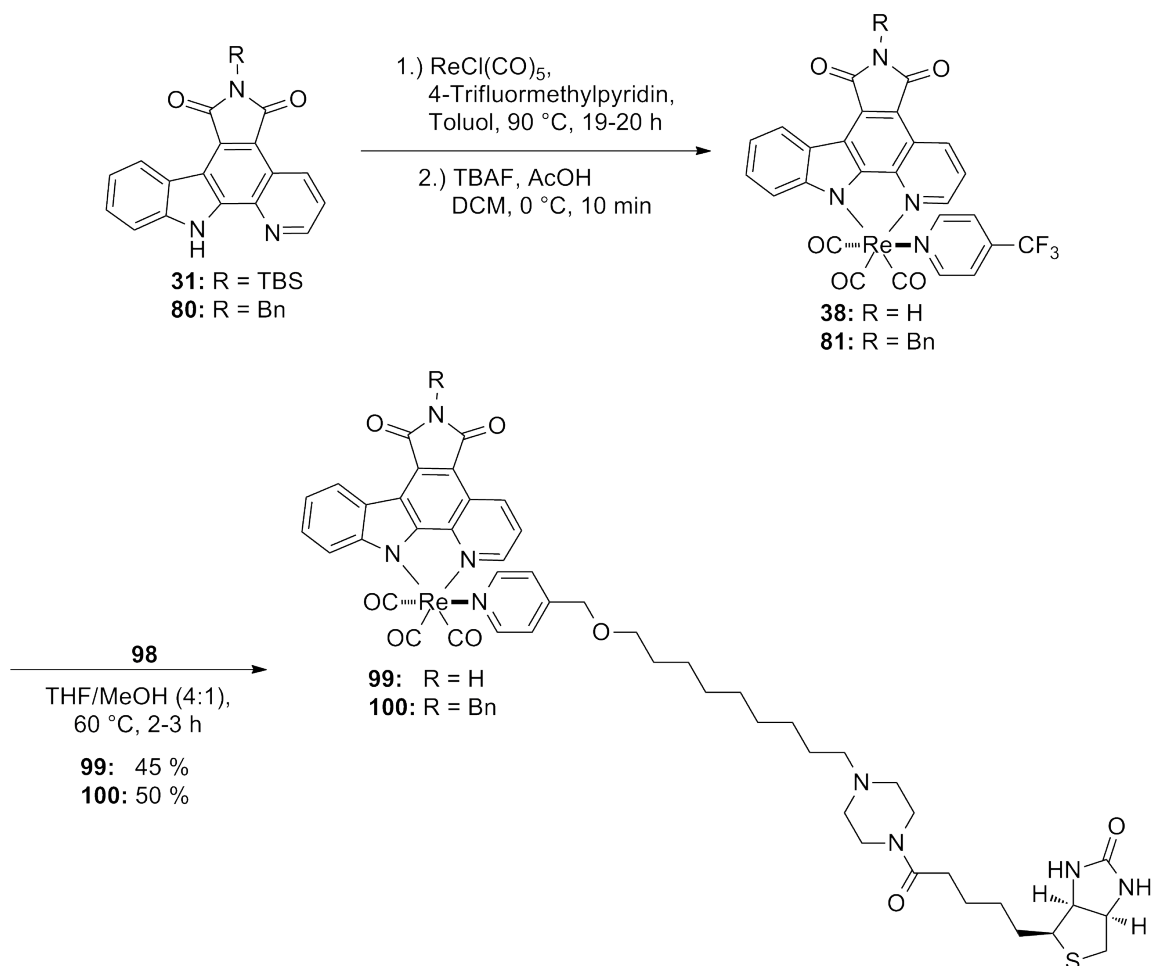
Da die Einführung einer zweiten Ethergruppe nicht gelang, wurde ein neuer Ansatzpunkt verfolgt. Wie bereits für Biotin-Ligand **76** gezeigt, war die Darstellung eines Amides statt eines Ethers realisierbar. Durch die Verwendung eines tertiären Amides ist die Polarität des gesamten Liganden geringer, die Stabilität der Bindung wird aber nicht beeinflusst. Ausgehend von diesen Überlegungen wurde zunächst Bromid **94** analog einer Methode von PICARD synthetisiert (Schema 3.23).^[150] Es ist außerdem bekannt, dass solche Bromide mit Piperazin (**95**) unter Zugabe von Kaliumcarbonat umgesetzt werden können.^[151] In einem finalen Schritt reagierte **96** mit dem aktivierten Biotin-Derivat **97** unter Erhalt des



Schema 3.23: Darstellung des finalen Biotin-markierten Pyridin-Liganden **98**.

Pyridin-Liganden **98**. Bereits bei der Aufarbeitung von **98** wurde deutlich, dass dieser Ligand eine deutlich geringere Hydrophilie als **76** besitzt.

Mit dem finalen Liganden in der Hand wurden im Anschluss die Rhenium(I)-Komplexe **99** und **100** dargestellt (Schema 3.24). Wie im vorherigen Fall wurden auch diesmal sowohl der ungeschützte als auch der Benzyl-geschützte Pyridocarbazol-Ligand verwendet. Die Synthese erfolgte in zwei Stufen, wobei zunächst Trifluormethylpyridin-Komplexe **38** und **81** hergestellt wurden. Durch Umsatz mit dem Biotin-Liganden **98** wurden die finalen Komplexe als Diastereomeren-Gemische mit geringerer Hydrophilie erhalten. Auf eine Diastereomeren-Trennung wurde auch diesmal verzichtet, da die relative Konfiguration keinen Einfluss auf die Singulett-Sauerstoff-Produktion oder die Photozytotoxizität haben sollte.



Schema 3.24: Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe **99** und **100**.

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

Weil auch in diesem Fall nicht Imidazol sondern der elektronenärmere Pyridin-Ligand Verwendung fand, wurde die Stabilität von **99** für weitere biologische Experimente bestimmt (Abb. 3.43). Hierzu wurde **99** unter Zugabe von 4-Dimethylaminopyridin in DMSO- d_6 gelöst und für mehrere Stunden belichtet. Anhand der Ausschnitte aus den ^1H -NMR-Spektren konnte durch die Belichtung das Entstehen eines zweiten Signalsatzes (etwa 26 % nach vier Stunden) beobachtet werden. Ohne Belichtung fand keine Dissoziation des monodentaten Liganden statt. Die Stabilität war vergleichbar mit Rhenium(I)-Komplex **79** und ausreichend für weitere Untersuchungen.

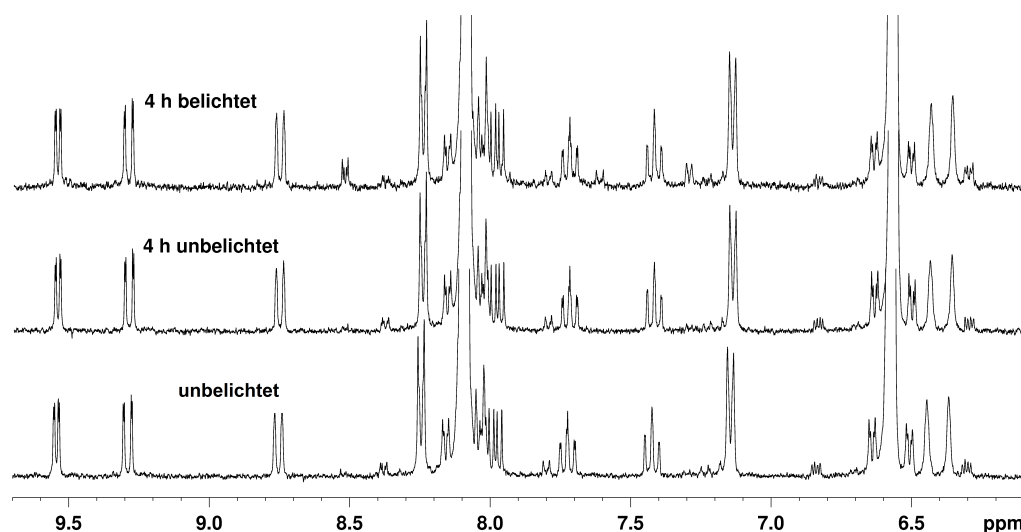


Abb. 3.43: Stabilitätstest des Rhenium(I)-Komplexes **99** (5 mM) in DMSO- d_6 nach Zugabe von 4-Dimethylaminopyridin (10.0 eq). Nach einer Belichtung von vier Stunden mit einem LED Reflektor konnte ein zweiter Signalsatz mit etwa 26 % im ^1H -NMR-Spektrum erkannt werden. Ohne Belichtung war keine Veränderung sichtbar.

Zunächst wurde überprüft, ob die Modifikation des Pyridin-Liganden einen Einfluss auf die Singulett-Sauerstoff-Produktion hat (Abb. 3.44). Auch in diesem Fall wurde erkannt, dass beide Verbindungen $^1\text{O}_2$ generieren und so für weitere Experimente zur Verfügung stehen. Mittels MTT-Viabilitätsassay von **99** und **100** bei einer Konzentration von $5\ \mu\text{M}$ in HeLa Zellen wurden die photozytotoxischen Eigenschaften untersucht. Nach einer Belichtung von 60 Minuten lag die Zellüberlebensrate für **99** nahe 0 %, während sie für Komplex **100** $87.5 \pm 19.0\ %$ betrug. Diese schlechte Photozytotoxizität konnte dadurch erklärt werden, dass die Löslichkeit der Benzyl-geschützten Verbindung aufgrund der zu geringen Hydrophilie im Belichtungsmedium sehr schlecht war und die Probe präzipitierte. Die

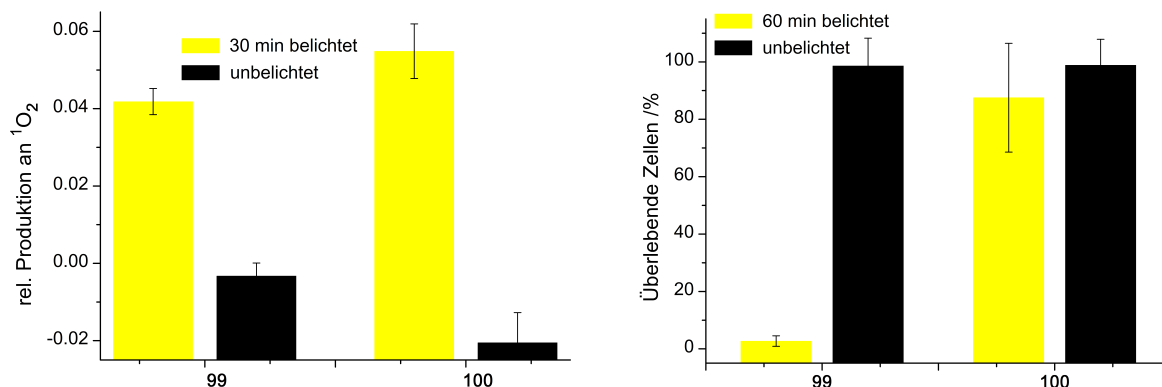


Abb. 3.44: Links: Singulett-Sauerstoff-Produktion der Rhenium(I)-Komplexe **99** und **100** ($50 \mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50 \mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung von 30 Minuten mit einem LED Reflektor verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten. Rechts: Photozytotoxizität der Rhenium(I)-Komplexe **99** und **100** in HeLa Zellen. Die Komplexe ($5 \mu\text{M}$) wurden für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einem LED Reflektor 60 Minuten belichtet. Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

Photozytotoxizität der Rhenium(I)-Komplexe **79** und **99** ist miteinander vergleichbar, weshalb davon ausgegangen wurde, dass beide Verbindungen die gleiche Lokalisierung in HeLa Zellen aufweisen. Für weiterführende Experimente wurde **99** verwendet.

In Lokalisationsversuchen, durchgeführt von RAIMO HARTMANN aus der Arbeitsgruppe PARAK des Fachbereiches Physik der Philipps-Universität Marburg, konnten erste Eindrücke von der Lokalisierung der Rhenium(I)-Komplexe gewonnen werden. Eine Co-Lokalisation von Verbindung **99** mit den Lysosomen bzw. Endosomen konnte ausgeschlossen werden (Abb. 3.45). Der Zelltod wurde also nicht durch das Freiwerden von Proteasen, welche Procaspasen spalten, eingeleitet. Außerdem konnte ein deutlicher Unterschied des Pyridocarbazol-Komplexes gegenüber der ebenfalls untersuchten Bipyridin-Verbindung **78** erkannt werden. So schien **78** nicht in die Zelle aufgenommen zu werden, was ursächlich für die fehlenden photozytotoxischen Eigenschaften war.

Außerdem wurde eine Lokalisation der Verbindung innerhalb des Zellkerns ausgeschlossen (Abb. 3.46), weshalb eine Einleitung von Apoptose durch etwaige Schäden der DNA nicht stattfand. Es konnte zwar keine völlige Co-Lokalisation von **99** sowohl mit der Plasma-

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

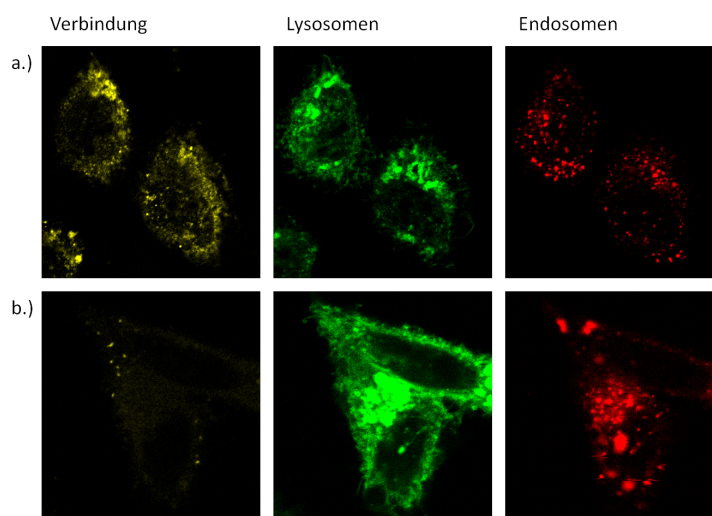


Abb. 3.45: Co-Lokalisation von Verbindung **99** (a) und **78** (b) mit Lysosomen und Endosomen. Um die Lysosomen (grüne Fluoreszenz) bzw. Endosomen (rote Fluoreszenz) zu lokalisieren, wurden das GFP-gelabelte und mit den Lysosomen verbundene Protein 1 (LAMP1) und das RFP-gelabelte frühe endosomale Antigen 1 (EEAE1) verwendet. Für die Färbung der Verbindungen (gelbe Fluoreszenz) wurden ein monoklonaler anti-Biotin Maus-Antikörper und ein DyLight649-gelabelter anti-Maus Antikörper genutzt. Gezeigt sind die Fluoreszenz-Bilder, aufgenommen mit einem 63x Objektiv.

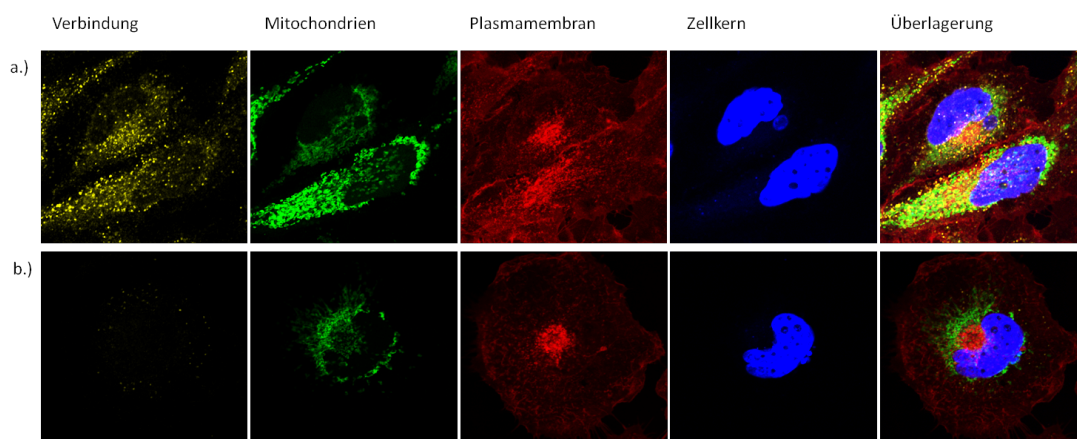


Abb. 3.46: Co-Lokalisation von Verbindung **99** (a) und **78** (b) mit den Mitochondrien, der Plasmamembran und dem Zellkern. Um die Mitochondrien (grüne Fluoreszenz), die Plasmamembran (rote Fluoreszenz) und den Zellkern (blaue Fluoreszenz) zu lokalisieren, wurden die GFP-gelabelte E1-alpha Pyruvat-Dehydrogenase, WGA-TMR und DAPI verwendet. Für die Färbung der Verbindungen (gelbe Fluoreszenz) wurden ein monoklonaler anti-Biotin Maus-Antikörper und ein DyLight649-gelabelter anti-Maus Antikörper genutzt. Gezeigt sind die Fluoreszenz-Bilder, aufgenommen mit einem 63x Objektiv.

als auch der Mitochondrienmembran festgestellt werden, die Anordnung der Verbindung innerhalb der Zelle sprach allerdings gegen eine willkürliche Verteilung im Zytoplasma. Stattdessen konnte der Schluss gezogen werden, dass die Rhenium(I)-Verbindungen durch die Zellmembran diffundieren und sich dann zu einem gewissen Teil sowohl in der Plasma- als auch der Mitochondrienmembran anlagern.

Nach Belichtung der Zellen wurde Singulett-Sauerstoff produziert, welcher die ungesättigten Fettsäuren der Membran angriff und den Mechanismus der Lipidperoxidation startete. In Betracht der weiteren biologischen Experimente lag der Schluss nahe, dass es daraufhin zu einer Ausschüttung von Cytochrom c aus den Mitochondrien ohne Beeinflussung des Membranpotentials kam, welches die Procaspase 9 aktivierte. Im nächsten Schritt folgte die Aktivierung der Caspasen 3 und 7, welche den programmierten Zelltod einleiteten. Ob tatsächlich eine Ausschüttung von Cytochrom c erfolgte, wurde noch nicht untersucht und muss in weiterführenden Experimenten geklärt werden. Eine Lokalisierung in der Mitochondrienmembran ist für eine Vielzahl von Photosensibilisatoren bekannt und wurde durch das sehr schnelle Auftreten der ersten apoptotischen Eigenschaften unterstützt. Weiterführende Arbeiten müssen klären, ob der Zelltod über die Mitochondrien initiiert wird oder zusätzliche Mechanismen innerhalb der Zelle ablaufen.

3.1.6. Bestimmung der inhibitorischen Eigenschaften der Rhenium(I)-Komplexe

Neben dem bereits gezeigten lichtinduzierten zytotoxischen Effekt auf HeLa Zellen besteht die Möglichkeit, dass Rhenium(I)-Komplexe auch inhibierende Eigenschaften besitzen. Die dargestellten Verbindungen basieren auf einem Pyridocarbazol-Liganden, der, in Kombination mit einem Metallzentrum, für seine Funktion als selektiver und potenter Proteinkinase-Inhibitor bekannt ist. In diesem Zusammenhang wurden in der Arbeitsgruppe MEGGERS bereits eine Vielzahl von Ruthenium(II)-, Iridium(III)- oder Rhodium(III)-Komplexen synthetisiert. Eine Kombination der beiden Eigenschaften ist hierbei erstrebenswert, da aus einer solchen Verbindung ein bifunktionaler Wirkstoff entstehen kann, der sowohl als Photosensibilisator als auch in der zielgerichteten Krebstherapie eingesetzt werden kann. Viele Proteinkinasen sind bei unterschiedlichen Krebsarten überexprimiert und tragen maßgeblich zu der Entstehung dieser Krankheit bei.^[88, 89]

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

Um zu überprüfen, ob die dargestellten Rhenium(I)-Komplexe ebenfalls als Proteinkinase-Inhibitoren in Frage kommen, wurde die Affinität der Verbindungen **19** und **32** in einem kompetitiven KINOMEscan Bindungsassay der Firma DiscoverX gegen 456 Proteinkinasen bestimmt (detaillierte Ergebnisse befinden sich im Anhang).^[95, 152] Diese beiden Komplexe wurden gewählt, weil sie Modellsysteme darstellen und im Falle der Inhibierung Modifizierungen des Pyridocarbazol-Liganden für die Optimierung zulassen. Die Messung ergab Primärdaten (%ctrl = Prozent der Kontrolle, 0 % = höchste Affinität, 100 % = niedrigste Affinität), die in Korrelation mit der entsprechenden Bindungskonstante K_d stehen. Hierbei zeigte sich, dass bei einer InhibitorKonzentration von 1 μ M der racemischen Gemische nur wenige der 456 getesteten Kinasen adressiert wurden. Allerdings wurde keine Proteinkinase mit weniger als 1 % Restaktivität detektiert. Für Komplex **19** mit Pyridin-Ligand wurde eine Kinase (PRKG2 - 8 %) mit %ctrl < 10 % und neun Kinasen (CLK2 - 26 %, DYRK1B - 31 %, FLT3(D835Y) - 32 %, GRK7 - 26 %, GSK3A - 15 %, HIPK2 - 32 %, MELK - 34 %, MST2 - 19 %, PIM1 - 16 %) mit %ctrl < 35 % gemessen. Für Komplex **32** mit Imidazol-Ligand wurden acht Proteinkinasen (DYRK1B - 24 %, GRK7 - 24 %, GSK3A - 17 %, HIPK2 - 34 %, IRAK3 - 33 %, JAK2(JH1domain-catalytic) - 32 %, MELK - 20 %, MST2 - 13 %) mit %ctrl < 35 % detektiert. Diese Ergebnisse zeigten, dass die untersuchten Verbindungen zu den selektiven, aber nicht zu den potentesten Inhibitoren gehören.

Um ein besseres Verständnis der inhibitorischen Eigenschaften der Komplexe zu bekommen, wurde die Hemmung des Enzyms Pim1 genauer untersucht. Pim1 gehört zur Gruppe der Serin/Threonin-Proteinkinasen und wird in verschiedenen Krebsarten überexprimiert, so dass es ein interessantes Zielmolekül in der Krebstherapie darstellt.^[88] Zudem besitzt der Pyridocarbazol-Ligand eine Präferenz für dieses Enzym.

Für die Bestimmung der IC₅₀-Werte wurden sowohl der Rhenium(I)-Komplex **19** als auch **32** verwendet, obwohl sie deutliche Unterschiede in den Ergebnissen des Screenings für diese Kinase zeigen. Erfahrungen diesbezüglich zeigten aber, dass in diesem Bereich die Werte für durchschnittliche Inhibitoren stark schwanken können. Außerdem wurden Verbindungen **37** und **66** untersucht, um den Einfluss des monodentaten Liganden zu zeigen. Des Weiteren ist **66** bei den vorangegangenen Studien als interessantester und vielversprechendster Komplex hervorgegangen (Abb. 3.47).

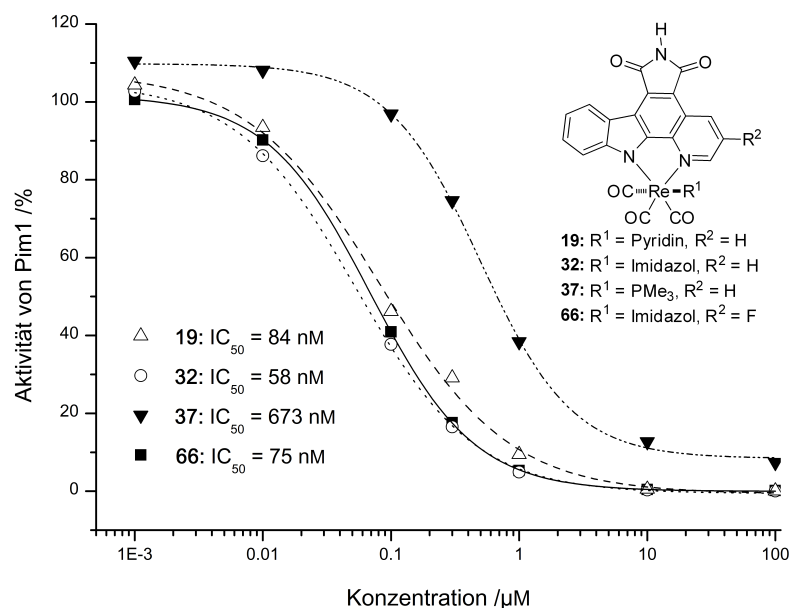


Abb. 3.47: IC_{50} -Kurven der Rhenium(I)-Komplexe **19**, **32**, **37** und **66** gegen Pim1 bei einer ATP-Konzentration von $10 \mu\text{M}$.

Der Vergleich der vier IC_{50} -Werte bei einer ATP-Konzentration von $10 \mu\text{M}$ zeigte deutliche Unterschiede der Verbindungen. Mit IC_{50} -Werten von 84 nM für **19**, 58 nM für **32** und 75 nM für **66** lagen alle im gleichen Bereich. Der Austausch des Pyridin- zu einem Imidazol-Liganden hatte nahezu keinen Einfluss, was dafür spricht, dass der räumliche Anspruch dieser beiden Verbindungen fast identisch ist und sie keine wichtigen Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden. Auch der Fluor-Substituent am Pyridocarbazol-Liganden sorgte nicht für eine Verbesserung des IC_{50} -Wertes. Die Einführung des Phosphin-Liganden hingegen führte zu einer Verschlechterung des Ergebnisses um den Faktor 10 ($IC_{50} = 673 \text{ nM}$). Diese Gruppe ist demnach sterisch zu anspruchsvoll, um in die aktive Tasche der Kinase zu passen. Dass die Verbindungen keine besseren Proteinkinase-Inhibitoren sind, kann dadurch erklärt werden, dass der monodentate Ligand und ein Carbonyl-Ligand fast senkrecht auf dem Pyridocarbazol-Liganden stehen und so als eine Art Deckel auf der aktiven Tasche sitzen. Die Maleimid-Einheit kann dadurch nicht optimal mit der Scharnierregion der Kinasen wechselwirken.

Trotzdem konnte in diesem Kapitel gezeigt werden, dass die Darstellung eines bifunktionalen Wirkstoffes gelungen ist. Zum einen können die Rhenium(I)-Verbindungen durch ihre Eigenschaft der Singulett-Sauerstoff-Produktion als Photosensibilisatoren eingesetzt

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

werden. Zum anderen fungieren sie als Proteinkinase-Inhibitoren, was am Beispiel der Hemmung des Enzymes Pim1 gezeigt wurde. Ob weitere Proteinkinasen inhibiert werden, müssen zusätzliche Arbeiten klären.

3.1.7. Übertragbarkeit des Konzeptes auf andere Metalle

In der Arbeitsgruppe MEGGERS sind unter anderem Ruthenium(II), Iridium(III) oder Rhodium(III) als Metallzentren für die Darstellung potenter und selektiver Proteinkinase-Inhibitoren bekannt.^[97–105] Deshalb wurde überprüft, ob neben Rhenium(I) weitere Metalle für die Verwendung als Photosensibilisatoren in Frage kommen und somit eine duale Funktionalität besitzen. Hierbei konnte auf die bereits gewonnenen Erkenntnisse bezüglich der Struktur des Pyridocarbazol-Liganden zurückgegriffen werden, welche zeigten, dass die Einführung eines Substituenten mit +M-Effekt an der 5-Position des Indolrings zu einer Verschlechterung bzw. zu einem kompletten Verlust der photozytotoxischen Eigenschaften führte. Daher wurden für weitere Untersuchungen lediglich Verbindungen verwendet, welche einen solchen Substituenten nicht besitzen.

In diesem Zusammenhang wurden von ALEXANDER WILBUER während seiner Doktorarbeit eine Reihe von Iridium(III)-Pyridocarbazol-Komplexen dargestellt.^[107] Durch Zusammenarbeit mit ANJA LUDEWIG konnte bereits gezeigt werden, dass einige dieser Verbindungen eine duale Funktionalität besitzen.^[153] Zum einen haben sie antiangiogenetische Eigenschaften aufgrund ihrer Proteinkinase-Inhibition, zum anderen induzieren sie nach Belichtung mit sichtbarem Licht Apoptose in den Zellen. Ob diese Photoreaktivität auf der Produktion von Singulett-Sauerstoff beruht, wurde im Folgenden geklärt.

Dafür wurde eine Auswahl verschiedener Komplexe zusammengestellt (Abb. 3.48), welche unterschiedliche Eigenschaften in HeLa Zellen aufweisen. Hierbei wurden die Einflüsse des bidentaten Liganden Dibenzocyclooctatetraen (DBCOD) gegenüber Cyclooctatetraen (COD) sowie des monodentaten Liganden geprüft. Außerdem wurde bei **102** ein modifizierter Pyridocarbazol-Ligand verwendet.

Die Iridium(III)-Komplexe wurden unter den bereits bekannten Bedingungen auf ihre Singulett-Sauerstoff-Produktion getestet (Abb. 3.49). Es wurde der Filter für den Transmissionsbereich $\lambda \geq 505\text{ nm}$ verwendet, obwohl die Absorptionsmaxima von **101–105**

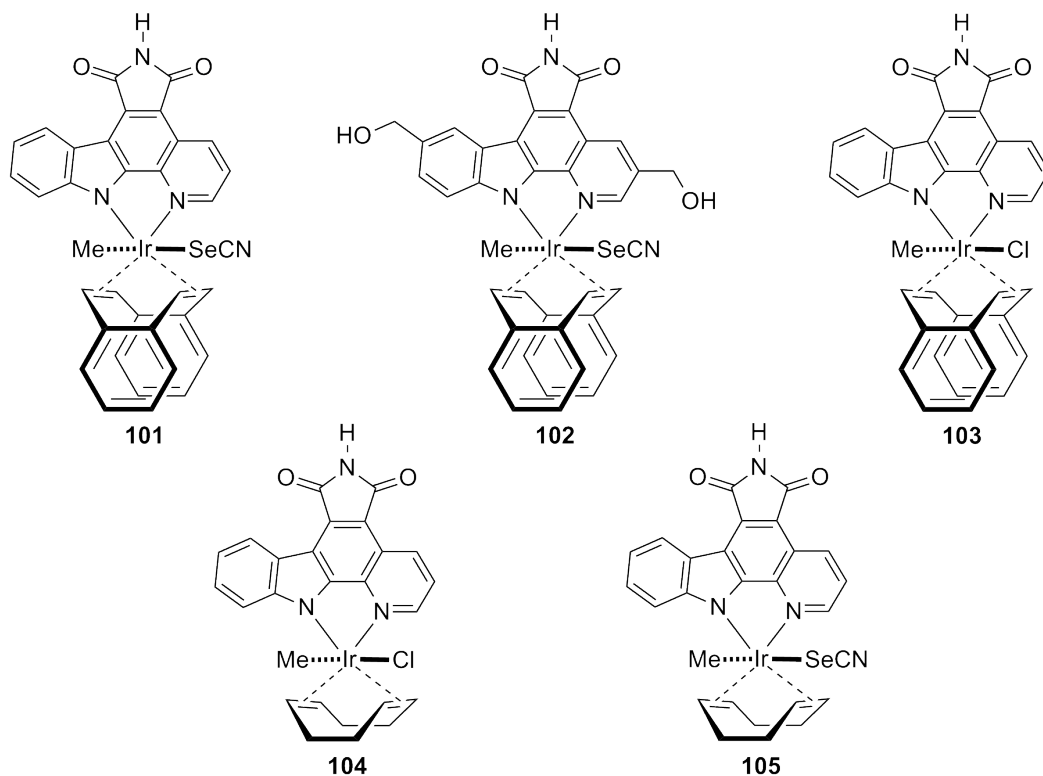


Abb. 3.48: Auswahl der von ALEXANDER WILBUER dargestellten Iridium(III)-Verbindungen (101–105) für die Überprüfung ihrer photozytotoxischen Eigenschaften.^[107]

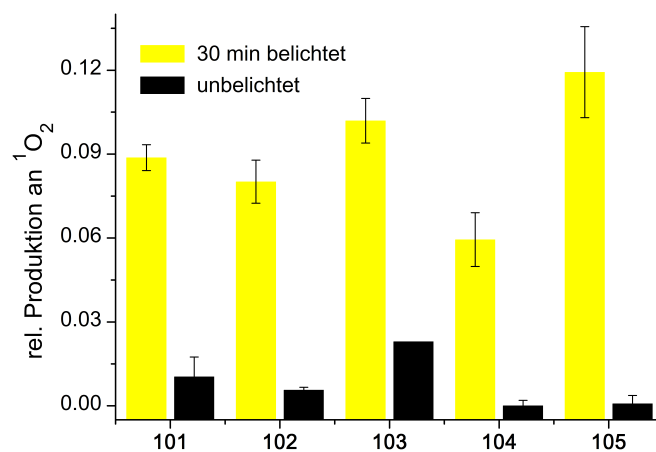


Abb. 3.49: Singulett-Sauerstoff-Produktion der Iridium(III)-Komplexe 101–105 ($50 \mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50 \mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung von 30 Minuten ($\lambda \geq 505 \text{ nm}$) mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von drei Datenpunkten (außer Verbindung 103 mit lediglich einem Datenpunkt für den Wert ohne Belichtung).

3.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

etwas niedriger liegen als für die Rhenium(I)-Komplexe. Jede der untersuchten Verbindungen generierte trotz unterschiedlicher Liganden $^1\text{O}_2$, wodurch Apoptose in den Zellen eingeleitet werden kann. Das Konzept kann also auf Iridium(III) übertragen werden.

Da die Darstellung der gezeigten Iridium(III)-Verbindungen recht aufwendig ist und in der Arbeitsgruppe MEGGERS eine Vielzahl an Ruthenium(II)-Komplexen zur Verfügung steht, wurde eine Übertragung des Konzeptes auf dieses Metallzentrum ebenfalls untersucht. Es wurde auf zwei Verbindungen zurückgegriffen, die von SEBASTIAN WEBER während seiner Bachelorarbeit synthetisiert wurden (Abb. 3.50).^[154] Zum einen wurde Ruthenium(II)-Komplex **106** getestet, weil er ein einfaches Modellsystem mit etlichen Variationsmöglichkeiten darstellt. Zum anderen wurde **107** auf seine photozytotoxischen Eigenschaften geprüft, da es sich hierbei um einen potenten und selektiven Proteinkinase-Inhibitor handelt.

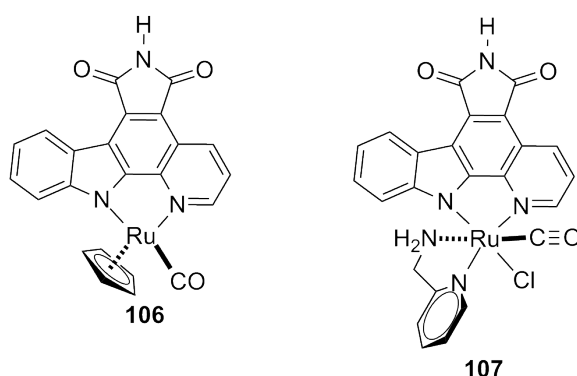


Abb. 3.50: Auswahl der von SEBASTIAN WEBER dargestellten Ruthenium(II)-Verbindungen für die Überprüfung ihrer photozytotoxischen Eigenschaften.

Wie in Abb. 3.51 zu erkennen ist, produzierten beide Verbindungen unter den gegebenen Bedingungen Singulett-Sauerstoff. Ob diese Eigenschaft auf die Anwendung in HeLa Zellen übertragen werden kann, wurde aber lediglich für **107** untersucht, da **106** keine ausreichende Stabilität für *in vivo* Studien besitzt. Eine Dissoziation des η^5 -C₅H₅-Liganden findet statt. Die Ergebnisse des MTT-Viabilitätsassays zeigten für **107** nach einer Belichtung ($\lambda \geq 505\text{nm}$) von 60 Minuten ein Zellüberleben von lediglich $14.2 \pm 7.8\%$ im Vergleich zu $98.5 \pm 5.6\%$ ohne Belichtung. Neben Rhenium(I)- und Iridium(III)- besitzen also auch Ruthenium(II)-Komplexe bifunktionale Eigenschaften als Photosensibilisatoren und Proteinkinase-Inhibitoren. Eine Übertragbarkeit des Konzeptes auf Rhodium(III) als

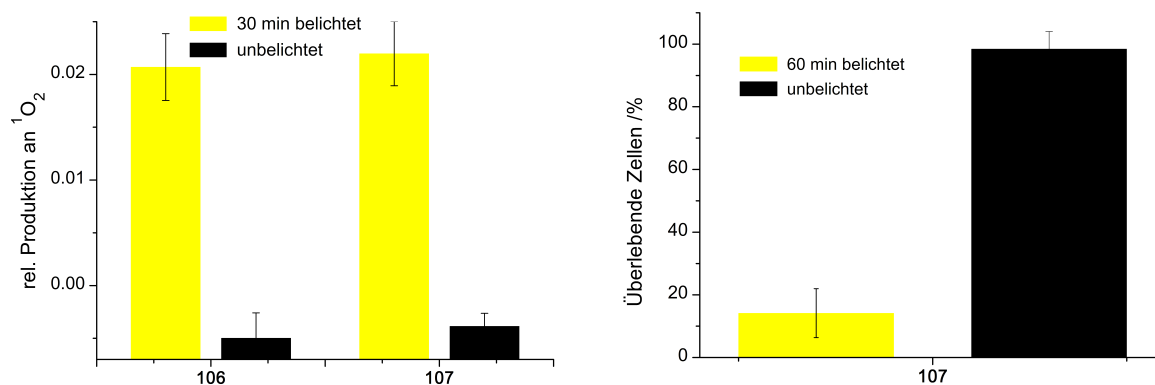


Abb. 3.51: Links: Singulett-Sauerstoff-Produktion der Ruthenium(II)-Komplexe **106** und **107** ($50\ \mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50\ \mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol ($8\ \text{mM}$) ohne Belichtung und nach Belichtung von 30 Minuten mit einem LED Reflektor verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten. Rechts: Photozytotoxizität des Ruthenium(II)-Komplexes **107** in HeLa Zellen. Der Komplex ($1\ \mu\text{M}$) wurde für eine Stunde inkubiert und im Anschluss mit einem LED Reflektor 60 Minuten belichtet. Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

Metallzentrum konnte bis jetzt noch nicht gezeigt werden.

Wie hieran erkannt werden kann, ist die Entdeckung und Optimierung von Verbindungen mit bifunktionalen Eigenschaften noch nicht abgeschlossen. Anhand der Rhenium(I)-Komplexe konnte gezeigt werden, welche Modifikationen des Pyridocarbazol-Liganden zu einer Erhöhung des Absorptionsmaximums ohne den Verlust der photozytotoxischen Eigenschaften führen. Eine weitere Übertragung der Erkenntnisse auf andere Metallzentren mit zusätzlicher Optimierung muss Gegenstand weiterer Forschungen sein.

3.2. Ruthenium(II)-Phenanthrolin-Komplexe als Proteinkinase-Inhibitoren

3.2.1. Untersuchung der inhibitorischen Eigenschaften

Die bisher im Arbeitskreis MEGGERS dargestellten Proteinkinase-Inhibitoren beruhen auf einem Pyridocarbazol-Liganden als Grundgerüst. Allerdings besitzt dieser eine Präferenz für einzelne Proteinkinasen, so dass nicht das komplette menschliche Genom adressiert werden kann. Durch einen Austausch des Pharmakophor-Liganden besetzt das Metallzentrum eine andere Position in der aktiven Tasche des Enzymes, was die Inhibierung neuer Proteinkinasen ermöglicht. Bereits während der Masterarbeit „Entwicklung metallorganischer Verbindungen auf Basis eines Phenanthrolin-Liganden als Inhibitoren für Adenosinnukleotid-bindende Proteine“ wurde ein Phenanthrolin-Ligand entwickelt,^[155] der ebenfalls durch die Ausbildung von bis zu zwei Wasserstoffbrückenbindungen als ATP-kompetitiver Inhibitor wirken kann (Abb. 3.52).

Die Darstellung des Phenanthrolin-Liganden **109** konnte dabei in sechs Stufen mit einer Gesamtausbeute von 25 % erreicht werden. Im Rahmen einer CH-Aktivierung wurde **109**

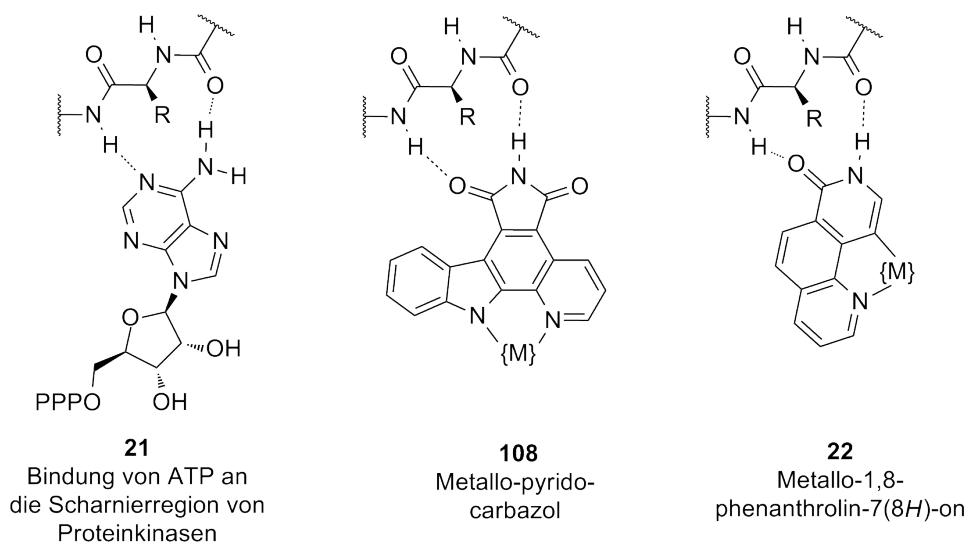


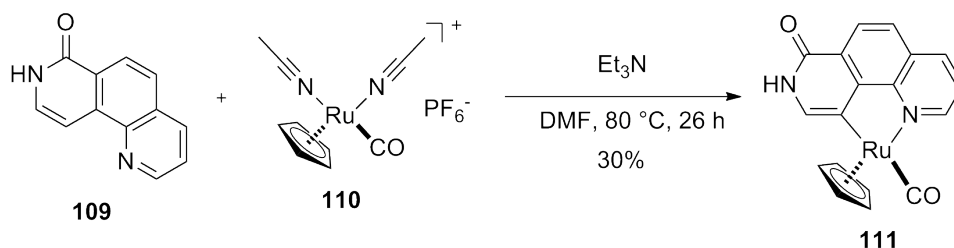
Abb. 3.52: Vergleich der Bindungseigenschaften von ATP (**21**), dem bisherigen Design des Pyridocarbazol-Liganden (**108**) und dem neu entwickelten Design basierend auf einem Phenanthrolin-Liganden (**22**). Die möglichen Wasserstoffbrückenbindungen zur Scharnierregion von Proteinkinasen sind mit gestrichelten Linien dargestellt.

schließlich mit dem Ruthenium(II)-Vorläufer-Komplex **110** umgesetzt, so dass Verbindung **111** als Racemat mit einer Ausbeute von 30 % erhalten wurde (Schema 3.25).

Um einen Überblick über die inhibitorischen Eigenschaften des racemischen Ruthenium(II)-Komplexes **111** zu erhalten, wurde dessen Affinität in einem kompetitiven KINOMEscan Bindungsassay der Firma DiscoverX gegen 451 Proteinkinasen bestimmt (Abb. 3.53).^[95, 152] Diese Messung ergab Primärdaten (%ctrl = Prozent der Kontrolle, 0 % = höchste Affinität, 100 % = niedrigste Affinität), die in Korrelation mit der entsprechenden Bindungskonstante K_d stehen. Hierbei zeigte sich, dass bei einer Inhibitorkonzentration von 10 μM des racemischen Gemisches nur wenige Kinasen der 451 getesteten adressiert wurden. So wurden gerade zwei Proteinkinasen (PIM2 - 0.55 %, DYRK1A - 0.8 %) mit %ctrl < 1 % und sieben Proteinkinasen (HASPIN - 4 %, MET - 4.8 %, WEE2 - 7.2 %, HIPK1 - 7.7 %, HIPK3 - 8 %, RIOK3 - 8.2 %, ROCK2 - 9.4 %) mit %ctrl < 10 % detektiert.

Zur weiteren Untersuchung der Bioaktivität wurde die Inhibition der Proteinkinase DYRK1A untersucht. Bei DYRK1A handelt es sich um eine Tyrosinkinase, die bei verschiedenen Signalwegen adressiert wird und mitverantwortlich für die Symptome des Down-Syndroms ist.^[89] Aus diesem Grund ist die Entwicklung selektiver Inhibitoren für dieses Enzym sehr wichtig. Für die Bestimmung der IC_{50} -Werte wurden sowohl der Ruthenium(II)-Komplex **111** als auch der Pharmakophor-Ligand 1,8-Phenanthrolin-7(8*H*)-on (**109**) verwendet (Abb. 3.54).

Der Vergleich der beiden IC_{50} -Werte bei einer ATP-Konzentration von 1 μM zeigte, dass sich der IC_{50} -Wert des Pharmakophor-Liganden ($\text{IC}_{50} = 4.61 \mu\text{M}$) bereits im niedrigen mikromolaren Bereich befindet. Das Metallzentrum mit weiteren Liganden sorgt für eine



Schema 3.25: Die bereits während der Masterarbeit dargestellten Verbindungen 1,8-Phenanthrolin-7(8*H*)-on (**109**) und Ruthenium(II)-Komplex **111**.

3.2. Ruthenium(II)-Phenanthrolin-Komplexe als Proteinkinase-Inhibitoren

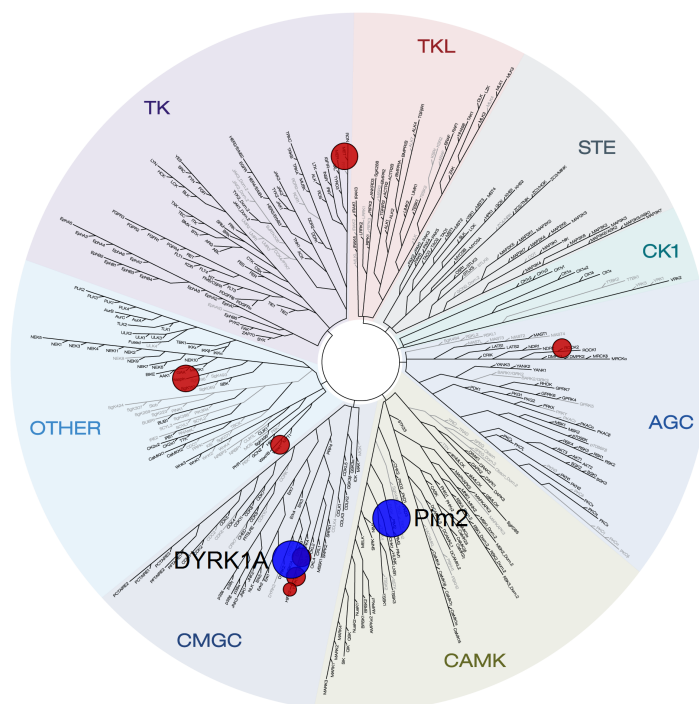


Abb. 3.53: Bestimmung der Proteinkinase-Selektivität des racemischen Gemisches des Komplexes **111** durch einen kompetitiven Bindungsassay der Firma DiscoveRx gegen 451 humane Proteinkinasen. Darstellung der Kinasen mit der höchsten Inhibierung (%ctrl < 1 %, große blaue Kreise, %ctrl < 10 %, rote Kreise) innerhalb des menschlichen Kinasendendrogramms, welches die einzelnen Proteinfamilien sowie die Verbindungen innerhalb der Kinasen zeigt. Pim2 - 0.55 %, DYRK1A - 0.8 %.

Verbesserung der Inhibitoreigenschaften um den Faktor 2.4 ($IC_{50} = 1.96 \mu M$), was auf zusätzliche Wechselwirkungen innerhalb der aktiven Tasche zurückgeführt werden kann. Des Weiteren wurden die IC_{50} -Werte der Organometallverbindung **111** für die Proteinkinasen Pim1 und Pim2 bestimmt, da Pim2 im Screening das beste Ergebnis zeigte und die beiden Kinasen große strukturelle Homologie besitzen.^[121, 156] Diese Homologie spiegelte sich auch in den Messergebnissen wider, da sie bei einer ATP-Konzentration von $1 \mu M$ annähernd gleich sind (IC_{50} (Pim1) = $2.10 \mu M$, IC_{50} (Pim2) = $2.09 \mu M$). Auch diese Werte befinden sich im niedrig mikromolaren Bereich.

Um sicherzustellen, dass die inhibitorischen Eigenschaften hauptsächlich auf der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen von der Amidgruppe des Liganden zu der aktiven Tasche beruhen, wurde die funktionelle Gruppe mit einer Benzyl-Schutzgruppe versehen, um diese zu blockieren (Schema 3.26). Dazu wurde 1,8-Phenanthrolin-7(8*H*)-on (**109**)

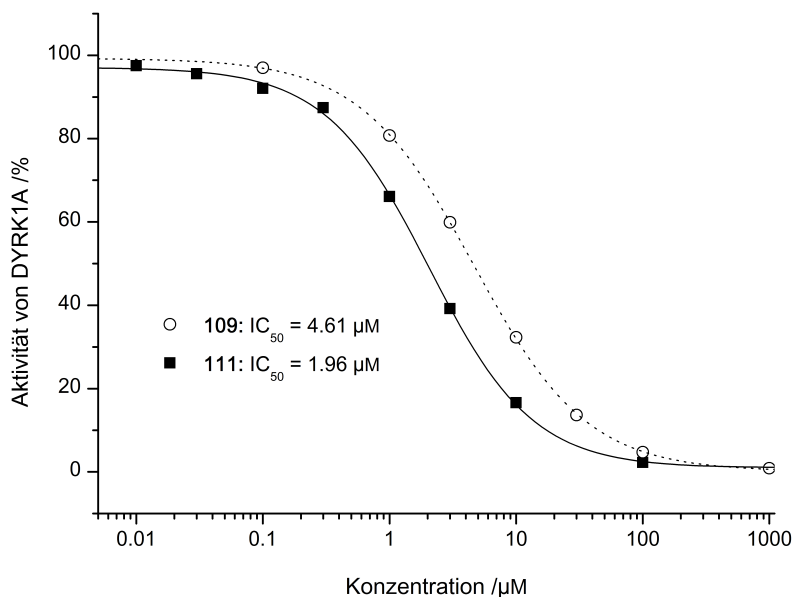


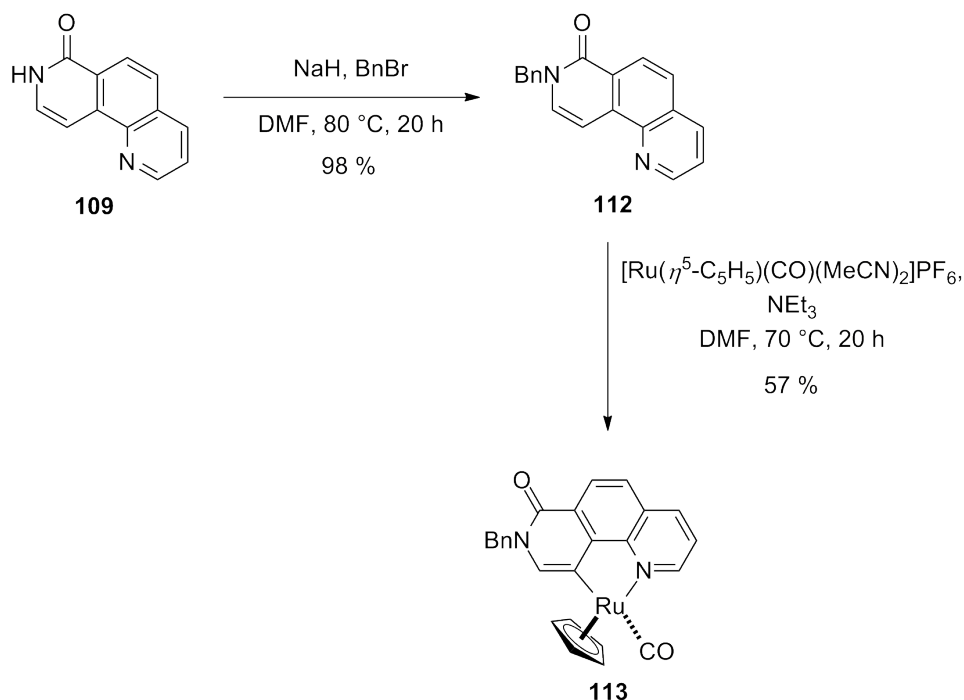
Abb. 3.54: IC_{50} -Kurven des Ruthenium(II)-Komplexes **111** und des Pharmakophor-Liganden 1,8-Phenanthrolin-7(8*H*)-on (**109**) gegen DYRK1A bei einer ATP-Konzentration von $1\ \mu\text{M}$.

zunächst mit Natriumhydrid deprotoniert und im Anschluss mit Benzylbromid in annähernd quantitativer Ausbeute umgesetzt. Die Darstellung des Halbsandwich-Komplexes **113** durch CH-Aktivierung ist bereits in der Literatur beschrieben und wurde auf ähnliche Weise durchgeführt.^[157, 158] Nach Zugabe des Ruthenium(II)-Vorläufers und Triethylamin zum Pharmakophor-Liganden **112** und Rühren für 20 Stunden bei $70\ ^\circ\text{C}$ konnte Komplex **113** mit einer Ausbeute von 57 % isoliert werden.

Der IC_{50} -Wert der Verbindung wurde ebenfalls bei einer ATP-Konzentration von $1\ \mu\text{M}$ gegen die Proteinkinase DYRK1A bestimmt. Da es sich bei Organometallverbindung **113** um eine relativ unpolare Substanz handelte, besaß diese keine optimale Löslichkeit unter Assaybedingungen, so dass lediglich eine maximale Konzentration von $100\ \mu\text{M}$ verwendet wurde. Erwartungsgemäß haben sich die inhibitorischen Eigenschaften verschlechtert, so dass selbst bei der Maximalkonzentration an Inhibitor der IC_{50} -Wert nicht bestimmt werden konnte ($\text{IC}_{50} > 100\ \mu\text{M}$). Daher liegt der Schluss nahe, dass die inhibitorischen Eigenschaften hauptsächlich auf der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen vom Pharmakophor-Liganden zu der aktiven Taschen beruhen.

Weitere Optimierungen des Pharmakophor- oder Modifizierungen am $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5$ -Liganden können vermutlich die inhibitorischen Eigenschaften des Komplexes durch die Ausbildung

3.2. Ruthenium(II)-Phenanthrolin-Komplexe als Proteinkinase-Inhibitoren



Schema 3.26: Darstellung des Benzyl-geschützten Pharmakophor-Liganden **112** und anschließende Umsetzung zum Ruthenium(II)-Komplex **113**.

zusätzlicher Wechselwirkungen verbessern. Außerdem wäre eine Racemat-Spaltung von Vorteil, da nur eines der beiden Enantiomere in der aktiven Tasche der Proteinkinasen bindet und so als Inhibitor fungiert.

3.2.2. Aufklärung des Bindungsmodus durch eine Co-Kristallstruktur

Um den genauen Bindungsmodus des Ruthenium(II)-Komplexes **111** in der aktiven Tasche einer Proteinkinase aufzuklären, wurde dieser mit Pim1 aufgrund der strukturellen Homologie zu Pim2^[121,156] und einschlägiger Erfahrung von KATJA KRÄLING kristallisiert. Nach der Strukturauflösung von HOLGER STEUBER konnte eine Co-Kristallstruktur des Inhibitors in der aktiven Tasche von Pim1 mit einer Auflösung von 1.95 Å erhalten werden, wodurch eine genaue Untersuchung der Wechselwirkung der Verbindung mit der Proteinkinase möglich wurde. Anhand der Gesamtstruktur (Abb. 3.55) kann der generelle Aufbau einer Proteinkinase erkannt werden. Nur ein Enantiomer der Organometallverbindung **111** passt hierbei in die ATP-Bindetasche.

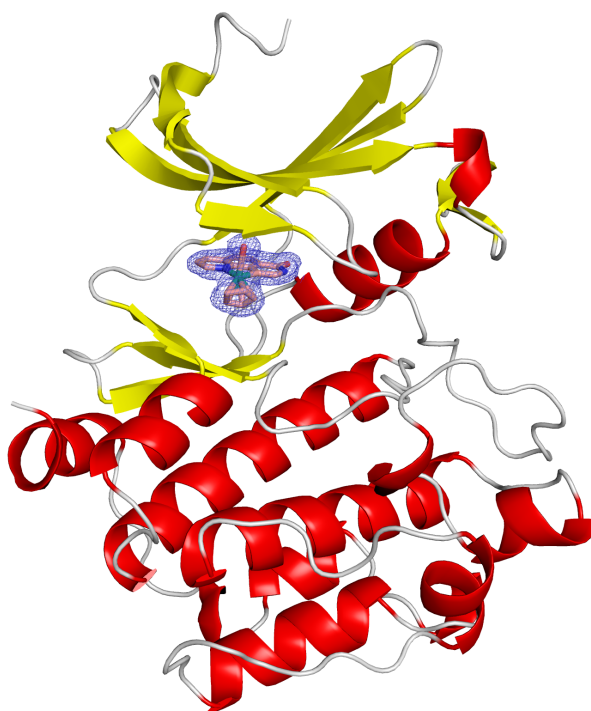


Abb. 3.55: Kristallstruktur von Pim1 mit einem Enantiomer der Ruthenium(II)-Verbindung **111** in der aktiven Tasche mit einer Auflösung von 1.95 Å. Die Elektronendichte von **111** ist auf 1σ gesetzt (PDB code: 3WE8).

Überraschenderweise bildet **111** keine Wasserstoffbrückenbindungen mit der Scharnierregion aus, dafür aber mit Aminosäureseitenketten, die auf der gegenüberliegenden Seite der ATP-Bindetasche liegen und für die Wechselwirkung der Triphosphat-Einheit des ATPs und von Magnesium(II)-Ionen zuständig sind (Abb. 3.56). Die Amidgruppe formt eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem NH von **111** und der Carboxylatgruppe der Aminosäureseitenkette von Asp186, die Teil des DFG-Motives ist und ein Magnesium(II)-Ion während der Aktivierung von ATP bindet.^[159–163] Zusätzlich hat diese Gruppe noch einen durch Wasser vermittelten Kontakt zum Rückgrat von Asp186. Eine weitere Wasserstoffbrückenbindung kann zwischen der Carbonylgruppe des Phenanthrolin-Liganden mit der Ammoniumgruppe der Aminosäureseitenkette Lys67 beobachtet werden, welche direkt mit dem α -Phosphat von ATP während des Phosphatgruppentransfers wechselwirkt.^[159–163] Solche Wechselwirkungen wurden bereits für rein organische Inhibitoren beobachtet.^[164–166] Des Weiteren werden eine Reihe hydrophober Wechselwirkungen zwischen dem η^5 -C₅H₅-, dem Phenanthrolin- und dem CO-Liganden der Ruthenium(II)-

3.2. Ruthenium(II)-Phenanthrolin-Komplexe als Proteinkinase-Inhibitoren

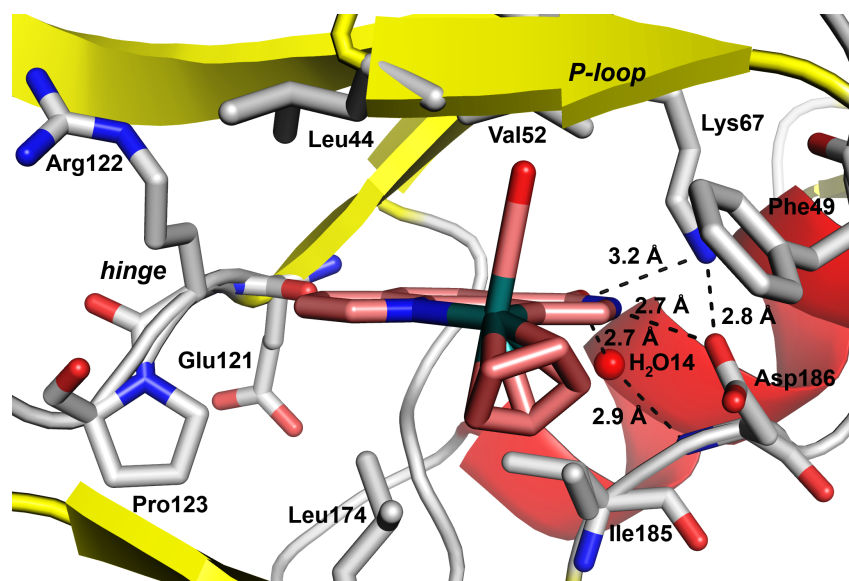


Abb. 3.56: Wechselwirkungen von **111** in der aktiven Tasche von Pim1.

Verbindung und den Aminosäureseitenketten von Leu44, Phe49, Val52, Leu174 und Ile185 ausgebildet.

Der monodentate CO-Ligand zeigt in Richtung der glyzinreichen Schleife (*P-loop*) und füllt somit eine kleine hydrophobe Tasche aus, die durch *induced fit* von den Resten Leu44, Gly45, Phe49 und Val52 gebildet wird. Damit liegt der Carbonyl-Ligand in einer sehr ähnlichen Position verglichen mit CO-Liganden in Co-Kristallstrukturen von Metall-Pyridocarbazol-Verbindungen mit Pim1 (Abb. 3.57).^[99, 103, 109, 121] Dabei ist zu erwähnen, dass Pim-Kinasen eine untypische Scharnierregion besitzen, da dort die Aminosäure Prolin sitzt, die eine Bildung von zwei Wasserstoffbrückenbindungen mit ATP oder ATP-kompetitiven Inhibitoren verhindert.^[159–163]

Die Arbeitsgruppen KNAPP und SCHWALLER vermuten, dass nicht ATP-mimetische Inhibitoren, die nicht mit der Scharnierregion sondern mit anderen Regionen der ATP-Bindungstasche wechselwirken, wie Komplex **111**, Vorteile gegenüber ATP-mimetischer Inhibitoren bezüglich der Affinität und Selektivität für Pim-Kinasen besitzen.^[166, 167] Der hier dargestellte Ruthenium(II)-Komplex könnte daher eine vielversprechende Leitstruktur für die Entwicklung potenter und selektiver nicht-ATP-mimetischer Inhibitoren für diese Kinasegruppe sein, was interessant für die Krebstherapie ist, da Pim-Kinasen in verschiedenen Tumorzellen überexprimiert werden.

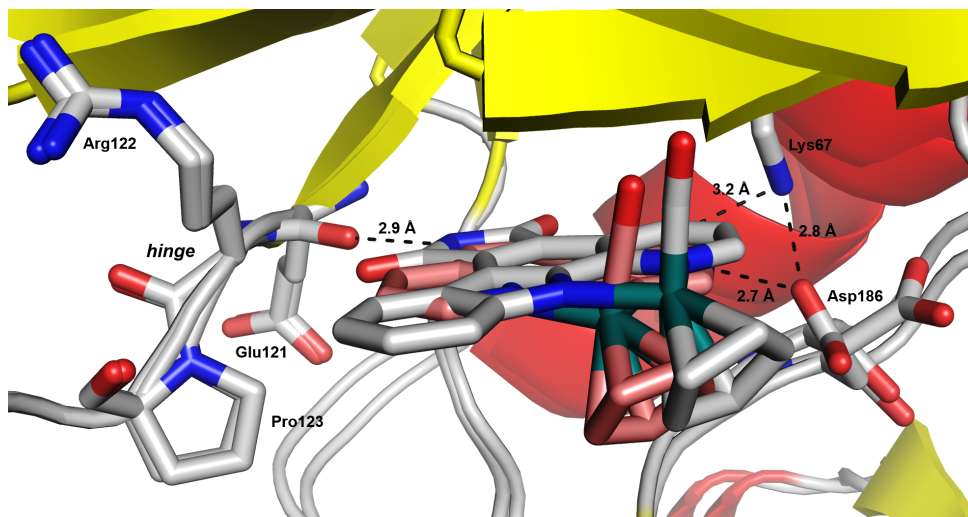


Abb. 3.57: Überlagerte Co-Kristallstrukturen eines Ruthenium(II)-Pyridocarbazol-Komplexes (PDB code: 2BZH, grau) und **111** (rosa) in der ATP-Bindetasche von Pim1. Die Grafiken wurden mit PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.3, Schrödinger, LLC übereinander gelegt.

Mit der Entwicklung der Metallo-Phenanthroline wurde eine neue Stoffklasse erschlossen, welche die Möglichkeit zur Darstellung selektiver Proteinkinase-Inhibitoren bietet. Durch die Analyse von Verbindung **111** bezüglich der Inhibition gegen 451 Proteinkinasen wurde ein Selektivitätsprofil erstellt. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurden die IC_{50} -Werte gegen DYRK1A und Pim2 bestimmt. Außerdem wurde eine Co-Kristallstruktur des Komplexes in der ATP-Bindetasche der Proteinkinase Pim1 erhalten. Auf diese Weise wurde der Bindungsmodus verifiziert und konnte mit bereits bekannten Pyridocarbazol-Komplexen verglichen werden. Überraschenderweise wechselwirkt der Phenanthrolin-Komplex nicht mit der Scharnierregion der ATP-Bindungstasche, sondern bildet Wasserstoffbrückenbindungen mit Aminosäureseitenketten der gegenüberliegenden Seite aus. Dies bietet die Möglichkeit zur Entwicklung neuer und selektiver Inhibitoren für die Proteinkinase Pim1.

4. Zusammenfassung und Ausblick

4.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden die bereits von SANDRA DIECKMANN beschriebenen photozytotoxischen Eigenschaften von Rhenium(I)-Komplexen mit einem bidentaten Pyridocarbazol-Liganden in Zusammenarbeit mit ANJA LUDEWIG genauer untersucht.^[106] Hierbei wurde nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI gezeigt,^[115] dass diese auf der Generierung von Singulett-Sauerstoff beruhen.

Für die Verwendung in der photodynamischen Therapie müssen Photosensibilisatoren eine ausreichende Stabilität aufweisen und bei einer hohen Wellenlänge ($\lambda \geq 600 \text{ nm}$) für eine tiefere Gewebepenetration angeregt werden.^[49] Der Austausch des monodentaten Pyridin-Liganden durch Imidazol (Abb. 4.1) führte zu einer erhöhten Langzeit-Stabilität in Gegenwart von 2-Mercaptoethanol. Aufgrund der größeren Elektronendichte im Imidazol ist die ausgebildete σ -Donorbindung zwischen Stickstoff und Metallzentrum stärker ausgeprägt. Eine Photodissoziation konnte ebenfalls nicht beobachtet werden. Neben stickstoffhaltigen Verbindungen eignen sich auch Phosphine, z. B. Trimethylphosphin, als monodentate Liganden für die Ausbildung stabiler Rhenium(I)-Komplexe.

Für die Erhöhung des Absorptionsmaximums wurden Modifikationen am Pyridocarbazol-Liganden vorgenommen (Abb. 4.1). Hierbei brachte die Erweiterung des aromatischen Systems keine Verbesserung. Erst die Einführung eines Substituenten mit +M-Effekt, wie eine Methoxy- oder Hydroxylgruppe, an der C5-Position des Indolrings führte zu einer Erhöhung des Maximums. In diesem Zusammenhang wurde die Darstellung des Pyridocarbazol-Liganden mit einem Dimethylamin-Substituenten erfolgreich gezeigt. Auch die Einführung eines Restes mit -I-Effekt, wie ein Fluor-Substituent oder eine Trifluormethylgruppe, an der C3-Position der Pyridin-Einheit verschob das Absorptionsmaximum in den längerwelligen Bereich. Eine Kombination der beiden Möglichkeiten verbesserte die Ergebnisse weiter. Allerdings führten die Modifikationen am Indolring zu einer Minimierung bzw. zu einem kompletten Verlust der photozytotoxischen Eigenschaften. Den Verbindungen war es nicht mehr möglich nach Belichtung Apoptose in HeLa Zellen einzuleiten. Für die Komplexe, welche am Pyridinring verändert wurden, war ein solcher

Rhenium(I)-Komplex **19**

Rhenium(I)-Komplexe

	R ₁	R ₂	R ₃	λ_{max} /nm	photozytotoxisch
32	Imidazol	H	H	513	ja (620 nm)
37	PMe ₃	H	H	516	ja (505 nm)
47	Imidazol	OMe	H	516	ja (505 nm)
48	Imidazol	OH	H	539	nein
61	Imidazol	NMe ₂	H	562	nein
66	Imidazol	H	F	528	ja (620 nm)
68	Imidazol	H	CF ₃	537	ja (620 nm)
71	Imidazol	OMe	F	542	ja (620 nm)

Abb. 4.1: Überblick der wichtigsten dargestellten Rhenium(I)-Verbindungen mit ihren photozytotoxischen Eigenschaften.

Effekt nicht zu beobachten. Die Stabilität der Verbindungen wurde durch die Modifikationen nicht beeinflusst. Worauf die Erhöhung des Absorptionsmaximums beruht, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden und muss Gegenstand weiterer Forschung sein. Es könnten z. B. Femtosekundenlaser-Spektroskopie und DFT-Rechnungen durchgeführt werden, um einen Eindruck des angeregten Zustandes der Rhenium(I)-Komplexe zu bekommen.

Da die Komplexe mit Modifikationen am Pyridinring weiterhin antiproliferative Eigenschaften besaßen, wurden sie auf ihre wellenlängenabhängige Photozytotoxizität untersucht. Hierbei lieferte **66** mit einem Absorptionsmaximum von $\lambda = 528$ nm die besten Ergebnisse. Selbst nach Belichtung mit rotem Licht ($\lambda \geq 620$ nm) war die Verbindung noch in der Lage Singulett-Sauerstoff zu produzieren, was bei einer Konzentration von $5 \mu\text{M}$ und einer Belichtungsdauer von 60 Minuten zu einem Zellüberleben von lediglich $10.47 \pm 1.59\%$ führte.

Daher wurde für diesen Rhenium(I)-Komplex der EC₅₀-Wert für den Transmissionsbereich $\lambda \geq 580$ nm nach einer Belichtung von 30 Minuten im Vergleich zur Dunkeltoxizität

4.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

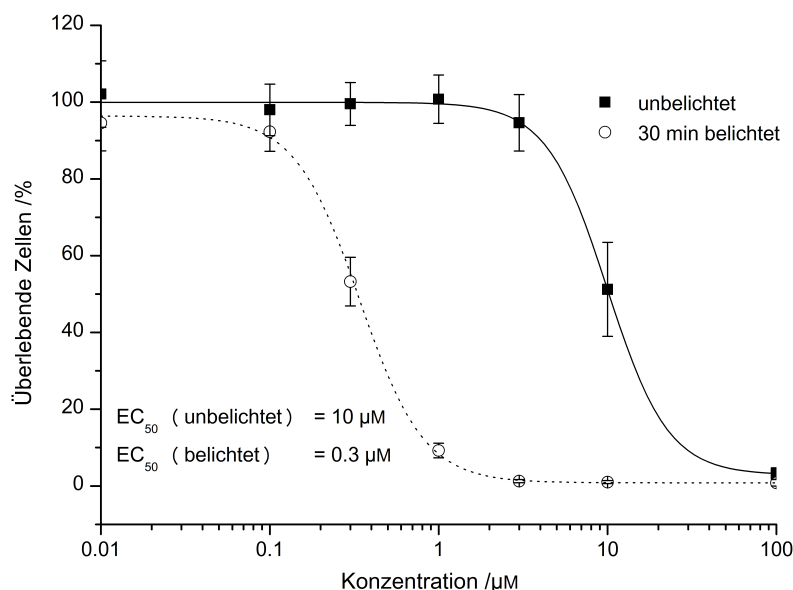


Abb. 4.2: Lichtinduzierte, antiproliferative Aktivität des Rhenium(I)-Komplexes **66** in HeLa Zellen.

Experimentelle Angaben: Eine Stunde nach Zugabe der Verbindung wurden die Zellen mit einem LED Reflektor für 30 Minuten bei einer Wellenlänge von $\lambda \geq 580$ nm belichtet. Die Zytotoxizität wurde nach weiteren 24 Stunden mittels MTT-Viabilitätsassay bestimmt. Die Standardabweichungen beruhen auf zwei unabhängigen Messungen mit insgesamt 18 Messpunkten für jede Konzentration.

bestimmt (Abb. 4.2). Bei einer Konzentration von $0.3 \mu\text{M}$ wurde nach Belichtung ein Zellüberleben von lediglich 50 % festgestellt. Dieser Wert lag im selben Bereich wie der für Verbindung **19** nach Bestrahlung mit grünem Licht ($\lambda \geq 505$ nm) und zeigt das Potential der Organometallverbindungen bei hohen Wellenlängen. Mit diesen Werten ist die Anregungswellenlänge von **66** vergleichbar mit der des bereits zugelassenen Photosensibilisators Photofrin. Die Dunkeltoxizität lag bei einer Konzentration von $10 \mu\text{M}$, was auf die gute Löslichkeit des Komplexes im Belichtungsmedium (1 % DMSO) zurückgeführt wurde. Selbst bei einer Konzentration von $100 \mu\text{M}$ war sie unter den genannten Bedingungen noch vollständig löslich.

Um einen Einblick zu bekommen, welche Mechanismen nach Zugabe und Belichtung der Verbindungen in den Zellen auftreten, wurden weitere Experimente durchgeführt. In Anwesenheit von α -Tocopherol, welches in den Membranen der Zelle lokalisiert ist, fand eine Reduzierung des photozytotoxischen Effektes statt. Außerdem wurde durch den zeitlichen Ablauf der Aktivierung der Caspasen 3 und 7 sowie der Initiator-Caspase 8

herausgefunden, dass Apoptose über den Mitochondrien-gekoppelten Signalweg eingeleitet wurde. Die Einleitung erfolgte dabei nicht durch die Ausschüttung von Cytochrom c aufgrund des Verlustes des mitochondrialen Membranpotentials, da dieses erst später zusammenbricht.

Für Lokalisationsexperimente wurden Biotin-markierte Rhenium(I)-Komplexe dargestellt, die in Kooperation mit der Arbeitsgruppe PARAK untersucht wurden (Abb. 4.3). Eine Lokalisierung der Verbindungen innerhalb der Lyso- bzw. Endosomen konnte ausgeschlossen werden, ebenso innerhalb des Zellkerns. Der Zelltod wurde demnach nicht durch Schäden der DNA induziert. Obwohl keine vollständige Überlagerung mit den Membranen der Zelle festgestellt wurde, sprach die Anordnung der Biotin-markierten Verbindung gegen eine willkürliche Verteilung im Zytoplasma. Zu einem gewissen Teil lagerten sich die Komplexe in den Membranen der Zelle an und induzierten durch Belichtung und Singulett-Sauerstoff-Produktion den Mechanismus der Lipidperoxidation. Welche Schritte darauf folgten bzw. außerdem abliefen, muss in weiteren Arbeiten geklärt werden.

Da die Rhenium(I)-Komplexe einen Pyridocarbazol-Liganden besitzen, wurden sie auf ihre inhibierenden Eigenschaften gegenüber der Proteinkinase Pim1 untersucht. In

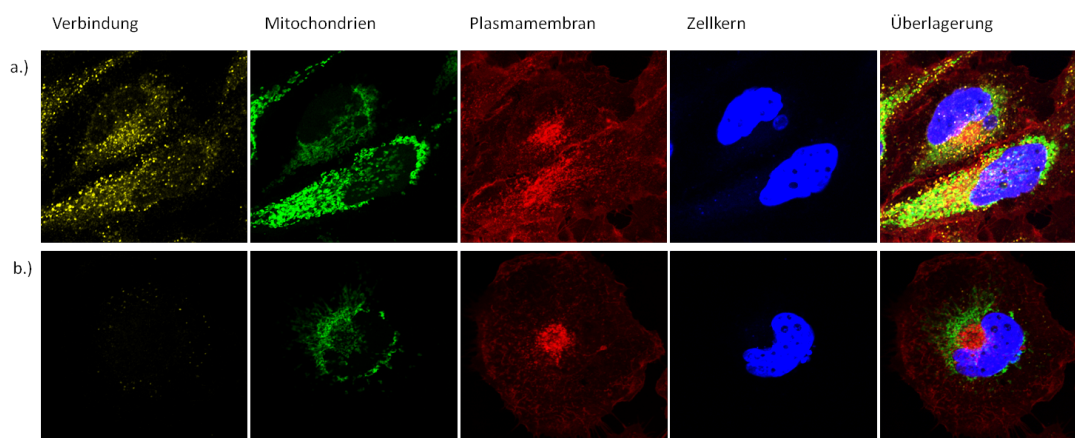


Abb. 4.3: Co-Lokalisierung von Verbindung **99** (a) und **78** (b) mit den Mitochondrien, der Plasmamembran und dem Zellkern. Um die Mitochondrien (grüne Fluoreszenz), die Plasmamembran (rote Fluoreszenz) und den Zellkern (blaue Fluoreszenz) zu lokalisieren, wurden die GFP-gelabelte E1-alpha Pyruvat-Dehydrogenase, WGA-TMR und DAPI verwendet. Für die Färbung der Verbindungen (gelbe Fluoreszenz) wurden ein monoklonaler anti-Biotin Maus-Antikörper und ein DyLight649-gelabelter anti-Maus Antikörper genutzt. Gezeigt sind die Fluoreszenz-Bilder, aufgenommen mit einem 63x Objektiv.

4.1. Rhenium(I)-Komplexe für die Photodynamische Therapie

Kombination mit einem Metallzentrum ist dieser Ligand als selektiver und potenter Inhibitor mit einer Präferenz für Pim1 bekannt. Eine Kombination der inhibitorischen und der photozytotoxischen Eigenschaften ist wünschenswert, weil dadurch ein Wirkstoff mit dualer Funktionalität entsteht, der sowohl als Photosensibilisator als auch in der zielgerichteten Krebstherapie eingesetzt werden kann. Mit IC_{50} -Werten im nanomolaren Bereich für eine ATP-Konzentration von $10\ \mu\text{M}$ wurde gezeigt, dass eine Hemmung der Proteinkinase möglich ist. Ob es hierbei Enzyme gibt, die ein besseres Ergebnis liefern, müssen weitere Arbeiten zeigen. Neben Rhenium(I)-Komplexen besitzen auch Iridium(III)- oder Ruthenium(II)-Verbindungen photozytotoxische Eigenschaften, die auf einer Generierung von Singulett-Sauerstoff beruhen. Eine Übertragbarkeit des Konzeptes auf Rhodium(III)-Verbindungen konnte bislang nicht gezeigt werden.

In weiteren Arbeiten wird in Kooperation mit der Firma NOVARTIS Rhenium(I)-Komplex **32** mit unmodifiziertem Pyridocarbazol- und Imidazol-Ligand auf seine Eigenschaften als Wirkstoff untersucht. Dazu wird u. a. die Löslichkeit in Wasser und verschiedenen simulierten Lösungsmitteln getestet. Außerdem sollen Einblicke in die Permeabilität der Verbindung in Membran-Simulationen erhalten werden. Neben der Inhibierung von Cytochromen wird des Weiteren die metabolische Stabilität gegenüber Leberzellen untersucht. In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass die Verwendung von Rhenium(I)-Verbindungen als Photosensibilisatoren in der photodynamischen Therapie möglich ist und in Zukunft weitere Entwicklungen in diese Richtung folgen.

4.2. Ruthenium(II)-Phenanthrolin-Komplexe als Proteinkinase-Inhibitoren

In einem zweiten Projekt wurde ein Metallo-Phenanthrolin-Gerüst entwickelt, welches die Möglichkeit zur Darstellung selektiver Proteinkinase-Inhibitoren bietet (Abb. 4.4). Durch einen kompetitiven Bindungsassay der Firma DiscoverX gegen 451 humane Proteinkinasen wurde ein Selektivitätsprofil des racemischen Gemisches des Komplexes **111** erstellt. Bei einer Inhibitorkonzentration von $10\text{ }\mu\text{M}$ wurden gerade zwei Proteinkinasen $\%ctrl < 1\%$ (DYRK1A - 0.8 %, PIM2 - 0.55 %) detektiert. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurden die IC_{50} -Werte gegen diese beiden Enzyme bestimmt, die bei einer ATP-Konzentration von $1\text{ }\mu\text{M}$ im niedrigen mikromolaren Bereich lagen. Durch die Darstellung der Benzyl-geschützten Verbindung wurde gezeigt, dass die Inhibierung hauptsächlich auf der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen der Amid-Bindung beruhte.

Außerdem wurde eine Co-Kristallstruktur des Ruthenium(II)-Komplexes in der ATP-Bindetasche der Proteinkinase Pim1 erhalten (Abb. 4.5). Dies ermöglichte eine Verifizierung des Bindungsmodus und einen Vergleich mit bereits bekannten Pyridocarbazol-

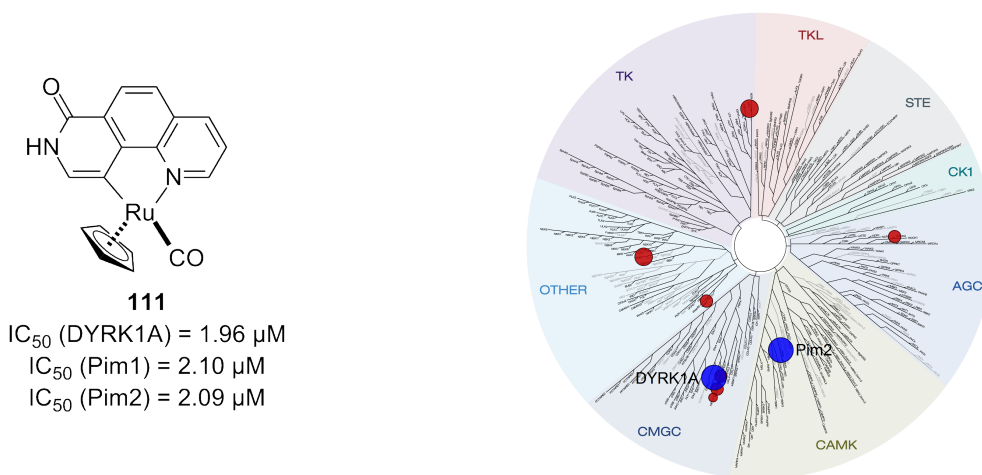


Abb. 4.4: Bestimmung der Proteinkinase-Selektivität des racemischen Gemisches des Komplexes **111** durch einen kompetitiven Bindungsassay der Firma DiscoverX gegen 451 humane Proteinkinasen. Darstellung der Kinasen mit der höchsten Inhibierung ($\%ctrl < 1\%$, große blaue Kreise, $\%ctrl < 10\%$, rote Kreise) innerhalb des menschlichen Kinasendendrogramms, welches die einzelnen Proteinfamilien sowie die Verbindungen innerhalb der Kinasen zeigt. PIM2 - 0.55 %, DYRK1A - 0.8 %.

4.2. Ruthenium(II)-Phenanthrolin-Komplexe als Proteinkinase-Inhibitoren

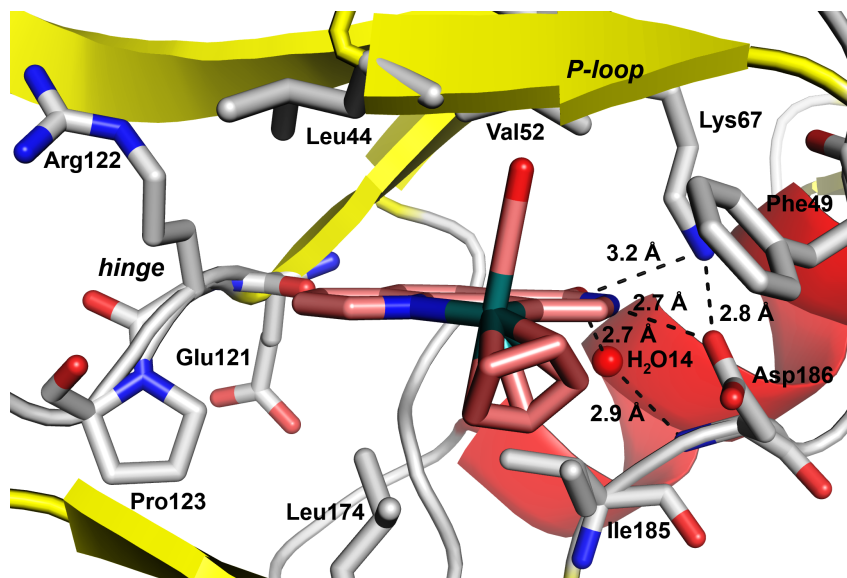


Abb. 4.5: Wechselwirkungen von **111** in der aktiven Tasche von Pim1.

Komplexen. Überraschenderweise wechselwirkt der Phenanthrolin-Komplex nicht mit der Scharnierregion der ATP-Bindetasche, sondern bildet Wasserstoffbrückenbindungen mit Aminosäureseitenketten der gegenüberliegenden Seiten aus. Des Weiteren konnten eine Reihe hydrophober Wechselwirkungen beobachtet werden.

Die dargestellte Organometallverbindung könnte daher eine interessante Leitstruktur für die Entwicklung potenter und selektiver nicht-ATP-mimetischer Inhibitoren für Pim1 sein. Durch Modifizierungen dieses Systems oder eine Racemat-Spaltung sollte es möglich sein, die IC₅₀-Werte weiter zu verbessern.

5. Experimenteller Teil

5.1. Allgemeine Arbeitsvorschriften und -techniken

Die Durchführung sämtlicher Reaktionen, bei denen sauerstoff- bzw. wasserempfindliche Substanzen verwendet wurden, erfolgte unter Stickstoffatmosphäre mit einem Stickstoffüberdruck. Für sauerstoffempfindliche Reagenzien wurde das Lösungsmittel vorher mit Stickstoff gespült, für wasser- und sauerstoffempfindliche Substanzen wurde SCHLENK-Technik verwendet. Arbeiten mit Rhenium(I)-Verbindungen wurden zusätzlich unter Ausschluss von Licht durchgeführt. Die für die Reaktionen eingesetzten Lösungsmittel wurden gemäß der üblichen Methoden absolutiert.^[168] Weitere Lösungsmittel, welche bei der Aufarbeitung der Substanzen Verwendung fanden, wurden vorher destillativ gereinigt. Kommerziell erhältliche Reagenzien wurden ohne weitere Reinigung eingesetzt. Die verschiedenen Pyridocarbazol-Derivate,^[109] Biotin-Ligand **76**,^[144,145] Palladium-Katalysator **51**,^[123] $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$ ^[169] sowie der Ruthenium(II)-Vorläufer $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ (**110**)^[170] wurden nach Literaturvorschriften dargestellt. Die Synthese von 1,8-Phenanthrolin-7(8*H*)-on (**109**) sowie von Ruthenium(II)-Komplex **111** wurden bereits in der Masterarbeit „Entwicklung metallorganischer Verbindungen auf Basis eines Phenanthrolin-Liganden als Inhibitoren für Adenosinnukleotid-bindende Proteine“ beschrieben.^[155] Die Reaktionskontrolle erfolgte mittels Dünnschichtchromatographie mit DC-Fertigfolien (Kieselgel 60 F₂₅₄) der Firma MERCK bzw. MACHEREY-NAGEL, der Nachweis der Substanzen durch Detektion unter UV-Licht der Wellenlängen 254 nm oder 366 nm, durch Anfärben mittels Kaliumpermanganat oder bei farbigen Verbindungen durch optische Kontrolle. Die Trennung und Reinigung der Verbindungen erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel 60 (Korngröße 0.040–0.063 mm) der Firma MERCK als stationäre Phase unter Normalatmosphäre. Für die Eluierung wurde das angegebene Laufmittel bei Raumtemperatur mit Hilfe eines Pressluftüberdruckes verwendet.

5.2. Spektroskopische und analytische Methoden

Kernspinresonanzspektroskopie: Die NMR-Spektren wurden bei einer Temperatur von 24 °C im jeweils angegebenen Lösungsmittel an einem BRUKER DPX 250 (^1H -NMR-Resonanz: 250 MHz, ^{13}C -NMR-Resonanz: 63 MHz), BRUKER AVANCE 300 (^1H -NMR-Resonanz: 300 MHz, ^{13}C -NMR-Resonanz: 75 MHz), BRUKER DRX 400 (^1H -NMR-Resonanz: 400 MHz, ^{13}C -NMR-Resonanz: 100 MHz), BRUKER AVANCE 500 (^1H -NMR-Resonanz: 500 MHz, ^{13}C -NMR-Resonanz: 125 MHz) oder einem BRUKER DRX 500 (^1H -NMR-Resonanz: 500 MHz, ^{13}C -NMR-Resonanz: 125 MHz) aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm angegeben und beziehen sich auf die δ -Skala. Die Auswertung der NMR-Spektren wurde mit dem Programm *TopSpin 3.0* durchgeführt. Zur Kalibration der einzelnen Spektren wurde das Restprotonensignal des deuterierten Lösungsmittels verwendet (CDCl_3 : $\delta = 7.26$ ppm; $\text{DMSO-}d_6$: $\delta = 2.50$ ppm; CD_3CN : $\delta = 1.94$ ppm).^[171] ^{13}C -NMR-Spektren wurden ^1H -NMR-breitbandentkoppelt aufgenommen und auf das jeweilige Lösungsmittel kalibriert (CDCl_3 : $\delta = 77.16$ ppm; $\text{DMSO-}d_6$: $\delta = 39.52$ ppm; CD_3CN : $\delta = 1.32, 118.26$ ppm). Die Kopplungskonstanten wurden in Hertz berechnet und die Signalmultiplizitäten sind mit den Symbolen s = Singulett, d = Duplett, t = Triplett und q = Quartett sowie deren Kombinationen gekennzeichnet. Für nicht aufgelöste Signale wurde der Bereich der chemischen Verschiebung als Multipllett (m) angegeben. Dabei handelt es sich um die beobachteten Multiplizitäten und nicht die theoretisch zu erwartenden. Die Zuordnung erfolgte soweit möglich anhand der Kopplungskonstanten. Die Messungen am BRUKER DPX 250 und am BRUKER AVANCE 300 wurden in Automation aufgenommen. Die Messungen am BRUKER DRX 400, am BRUKER AVANCE 500 und am BRUKER DRX 500 wurden im Handbetrieb von Mitarbeitern der NMR-Serviceabteilung des Fachbereiches Chemie der Philipps-Universität Marburg durchgeführt.

Infrarotspektroskopie: IR-Spektren wurden auf einem BRUKER ALPHA ATR-FTIR IFS 200 Interferometer aufgenommen. Die Lage der Absorptionsbanden ist in Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ in der Einheit cm^{-1} angegeben.

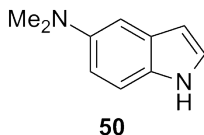
5.2. Spektroskopische und analytische Methoden

Massenspektrometrie: Die Massenspektren wurden von Mitarbeitern der massenspektrometrischen Abteilung des Fachbereiches Chemie der Philipps-Universität Marburg an einem FINNIGAN MAT 95 und einem FINNIGAN TSQ 700 aufgenommen. Die detektierten Ionenmassen m/z sind in der atomaren Masseneinheit u angegeben. Die Isotopenmuster stehen im Einklang mit den natürlich berechneten Isotopenverteilungen. Es ist das Signal mit der höchsten natürlichen Auftrittswahrscheinlichkeit angegeben.

Kristallstrukturanalyse: Einkristalle der Rhenium(I)-Verbindungen **36**, **42**, **44** und **69** wurden durch langsame Diffusion von Hexan in Dichlormethan bei 23 °C erhalten. Ein Einkristall des Rhenium(I)-Komplexes **37** wurde durch Kristallisation aus einer konzentrierten DMSO-Lösung bei 23 °C erhalten. Die Strukturen wurden von KLAUS HARMS gelöst und die jeweiligen .cif-Dateien im Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) hinterlegt.

5.3. Darstellung der Liganden

Darstellung von *N,N*-Dimethyl-1*H*-indol-5-amin (**50**)

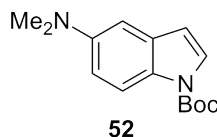


5-Bromindol (**49**, 50.0 mg, 255 μ mol), RuPhos (5.9 mg, 12.8 μ mol) und Palladium-Katalysator **51** (9.2 mg, 12.8 μ mol) wurden in ein Druckröhrchen gefüllt, welches im Anschluss evakuiert und mit Stickstoff geflutet wurde. LiHMDS (1 M in Hexan, 0.62 mL, 612 μ mol) und Dimethylamin (2 M in THF, 0.31 mL, 612 μ mol) wurden zugegeben und das Reaktionsgemisch 17 Stunden auf 65 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Salzsäure (2 M, 1.0 mL) zugegeben, das resultierende Gemisch mit Ethylacetat (2.0 mL) versetzt und in eine gesättigte Natriumhydrogencarbonat-Lösung (5.0 mL) gegeben. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 2:1) gereinigt. *N,N*-Dimethyl-1*H*-indol-5-amin (**50**) wurde als gelbes Öl (29.9 mg, 73 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.28$ (Hexan/Ethylacetat 2:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.05$ (s, 1H, N-H), 7.25 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H-7), 7.10 (dd, $J = 2.8, 2.8$ Hz, 1H, H-2), 7.07 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H-4), 6.92 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1H, H-6), 6.46–6.44 (m, 1H, H-3), 2.93 (s, 6H, -N(CH₃)₂). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 146.2$ (C-5), 130.5 (C_{q, arom}), 128.7 (C_{q, arom}), 124.7 (C_{arom}), 113.3 (C_{arom}), 111.5 (C_{arom}), 105.2 (C_{arom}), 102.1 (C_{arom}), 43.1 (-N(CH₃)₂). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3402, 2944, 2870, 2787, 1623, 1577, 1509, 1479, 1446, 1322, 1259, 1192, 1121, 1054, 959, 900, 841, 788, 758, 718, 605, 485$. **HRMS** (ESI⁺): C₁₀H₁₃N₂ (M+H)⁺ berechnet: 161.1073, gefunden: 161.1074.

5.3. Darstellung der Liganden

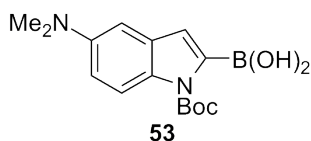
Darstellung des Boc-geschützten Indol-Derivates **52**



Eine Lösung von *N,N*-Dimethyl-1*H*-indol-5-amin (**50**, 345 mg, 2.15 mmol) in THF (1.7 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und Di-*tert*-butyldicarbonat (484 μ L, 2.26 mmol) wurde zugegeben, gefolgt von der vorsichtigen Zugabe von 4-Dimethylaminopyridin (395 mg, 3.23 mmol). Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 22 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein weißer Feststoff ausfiel. Die entstandene Suspension wurde erneut auf 0 °C gekühlt und mit Salzsäure (2 M, 2.0 mL) versetzt. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde fünf Minuten gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (2×25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung (50 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 10:1) gereinigt. Das Boc-geschützte Indol-Derivat **52** wurde als gelbes Öl (524 mg, 93 %) erhalten.

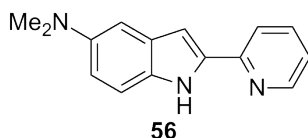
DC: $R_f = 0.23$ (Hexan/Ethylacetat 10:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.98$ (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-7), 7.52 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H, H-2), 6.90–6.87 (m, 2H, H-4, H-6), 6.47 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H, H-3), 2.96 (s, 6H, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.66 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 150.0$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 147.7 (C-5), 131.7 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 128.5 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 126.2 (C_{arom}), 115.6 (C_{arom}), 112.6 (C_{arom}), 107.3 (C_{arom}), 104.5 (C_{arom}), 83.3 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 42.1 ($-\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 28.4 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 2977, 2796, 1723, 1618, 1578, 1483, 1444, 1372, 1314, 1245, 1168, 1113, 1021, 965, 901, 834, 796, 758, 718, 631$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ berechnet: 261.1598, gefunden: 261.1599.

Darstellung der Boronsäure **53**



Eine Lösung von Diisopropylamin (0.5 mL, 3.56 mmol) in THF (1.5 mL) wurde auf 0 °C gekühlt, *n*-Butyllithium (2.5 M in Hexan, 1.4 mL, 6.25 mmol) tropfenweise zugegeben und das Reaktionsgemisch 20 Minuten bei dieser Temperatur gerührt. Das dadurch generierte LDA wurde tropfenweise über 15 Minuten zu einer Lösung des Indol-Derivates **52** (520 mg, 1.98 mmol) und Triisopropylborat (691 μ L, 3.00 mmol) in THF (3.1 mL) bei 0 °C zugegeben. Im Anschluss wurde das Reaktionsgemisch eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt, bevor Salzsäure (2 M, 3.1 mL) zugegeben und weitere 10 Minuten gerührt wurde. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur und erneutem Rühren für 30 Minuten wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (5 \times 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung (50 mL) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Boronsäure **53** wurde ohne weitere Aufarbeitung direkt weiter umgesetzt.

Darstellung des Pyridylindol-Derivates **56**



Eine Suspension von 2-Brompyridin (**54**, 182 μ L, 1.87 mmol), der Boronsäure **53** (596 mg, 1.96 mmol) und Natriumcarbonat (515 mg, 4.86 mmol) in 1,2-Dimethoxyethan/Wasser (4:1, 10 mL) wurde 20 Minuten mit Stickstoff gespült. [Pd(PPh₃)₄] (216 mg, 187 μ mol) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 72 Stunden bei 85 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Wasser (20 mL) zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (5 \times 40 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch

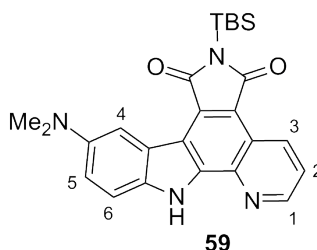
5.3. Darstellung der Liganden

(Hexan/Ethylacetat 3:1 \rightarrow 1:1) gereinigt. Da eine Mischung des Boc-geschützten und des ungeschützten Pyridylindol-Derivates **55** entstanden ist, wurde dieses direkt weiter umgesetzt.

Das Gemisch wurde an Kieselgel adsorbiert und 22 Stunden im Feinvakuum auf 80 °C erhitzt. Danach wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit Ethylacetat (500 mL) über Kieselgur filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:1) gereinigt. Pyridylindol-Derivat **56** wurde als gelber Feststoff (308 mg, 70 % über drei Stufen) erhalten.

DC: $R_f = 0.35$ (Hexan/Ethylacetat 1:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 10.08$ (s, 1H, N-H), 8.61 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.82 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.75–7.69 (m, 1H, H_{arom}), 7.27 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.19–7.15 (m, 1H, H_{arom}), 7.08 (s, 1H, H_{arom}), 6.99–6.95 (m, 2H, H_{arom}), 2.99 (s, 6H, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 150.8$ ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 149.1 (C_{arom}), 146.3 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 137.1 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 136.6 (C_{arom}), 131.4 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 129.9 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 121.8 (C_{arom}), 119.9 (C_{arom}), 114.6 (C_{arom}), 111.9 (C_{arom}), 104.7 (C_{arom}), 100.2 (C_{arom}), 42.8 ($-\text{N}(\text{CH}_3)_2$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3135, 2790, 1622, 1590, 1540, 1467, 1321, 1275, 1215, 1185, 1120, 1051, 994, 960, 842, 774, 737, 609, 461, 405$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ berechnet: 238.1339, gefunden: 238.1340.

Darstellung des Pyridocarbazol-Derivates **59**

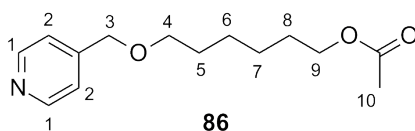


Pyridocarbazol-Derivat **60** (100 mg, 208 μmol), RuPhos (4.8 mg, 10.4 μmol) und Palladium-Katalysator **51** (7.4 mg, 10.4 μmol) wurden in ein Druckröhrchen gefüllt, welches im Anschluss evakuiert und mit Stickstoff geflutet wurde. LiHMDS (1 M in Hexan, 0.50 mL, 500 μmol) und Dimethylamin (2 M in THF, 0.25 mL, 500 μmol) wurden

zugegeben und das Reaktionsgemisch vier Stunden auf 65 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde Salzsäure (2 M, 2.0 mL) zugegeben, das resultierende Gemisch mit Ethylacetat (3.0 mL) versetzt und in eine gesättigte Natriumhydrogencarbonat-Lösung (15 mL) gegeben. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 × 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 2:1) gereinigt. Pyridocarbazol-Derivat **59** wurde als brauner Feststoff (57.0 mg, 62 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.20$ (Hexan/Ethylacetat 2:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 10.79$ (s, 1H, N-H), 9.42 (dd, $J = 8.6, 1.7$ Hz, 1H, H-3), 8.95 (dd, $J = 4.2, 1.6$ Hz, 1H, H-1), 8.51 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, H-4), 7.60 (dd, $J = 8.5, 4.4$ Hz, 1H, H-2), 7.41 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H-6), 7.17 (dd, $J = 9.0, 2.5$ Hz, 1H, H-5), 3.09 (s, 6H, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.07 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.64 (s, 6H, $-\text{Si}(\text{CH}_3)_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 175.8$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 174.2 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 150.2 (C_{arom}), 147.2 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 140.4 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 138.4 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 134.6 (C_{arom}), 133.4 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 131.1 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 123.4 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 122.7 (C_{arom}), 121.9 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 119.7 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 116.8 (C_{arom}), 115.4 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 111.9 (C_{arom}), 108.7 (C_{arom}), 42.5 ($-\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 26.7 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 19.3 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -3.8 ($-\text{Si}(\text{CH}_3)_2$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 2930, 2887, 2857, 1746, 1688, 1627, 1577, 1524, 1490, 1410, 1330, 1280, 1242, 1115, 1043, 824, 798, 739, 697, 583, 406$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_2\text{Si}_1$ ($\text{M}+\text{H}^+$) berechnet: 445.2054, gefunden: 445.2047.

Darstellung von 6-(Pyridin-4-ylmethoxy)hexylacetat (**86**)



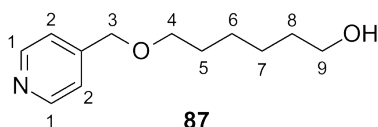
Eine Lösung von 4-Pyridinmethanol (**85**, 244 mg, 2.33 mmol) in DMF (5.0 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und mit Natriumhydrid (60 % Mineralöldispersion, 182 mg, 4.66 mmol) versetzt. Nach 15 Minuten wurde 6-Bromhexylacetat (**84**, 1.04 g, 4.66 mmol) zugegeben und auf Raumtemperatur erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde 3.5 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, mit Wasser (10 mL) versetzt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt.

5.3. Darstellung der Liganden

Der Rückstand wurde in Dichlormethan (25 mL) gelöst und mit Wasser (2×25 mL) und gesättigter Natriumchlorid-Lösung (25 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:1) gereinigt und 6-(Pyridin-4-ylmethoxy)hexylacetat (**86**) als farbloses Öl (184 mg, 33 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.28$ (Hexan/Ethylacetat 1:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.57$ (dd, $J = 5.9, 4.5$ Hz, 2H, H-1), 7.27–7.26 (m, 2H, H-2), 4.51 (s, 2H, H-3), 4.06 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, H-9), 3.50 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, H-4), 2.04 (s, 3H, H-10), 1.67–1.60 (m, 4H, $-\text{CH}_2$), 1.43–1.36 (m, 4H, $-\text{CH}_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.2$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 149.8 (C-1), 147.9 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 121.7 (C-2), 71.1 (C-3), 70.9 (C-4), 64.4 (C-9), 29.6 ($-\text{CH}_2$), 28.6 ($-\text{CH}_2$), 25.84 ($-\text{CH}_2$), 25.78 ($-\text{CH}_2$), 21.0 (C-10). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 2936, 2859, 1734, 1603, 1458, 1413, 1365, 1235, 1108, 1035, 798, 608, 479$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_1\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}^+$) berechnet: 252.1594, gefunden: 252.1591.

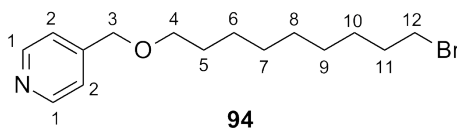
Darstellung von 6-(Pyridin-4-ylmethoxy)hexan-1-ol (**87**)



Zu einer Lösung von 6-(Pyridin-4-ylmethoxy)hexylacetat (**86**, 180 mg, 716 μmol) in Methanol (9.0 mL) wurde eine Lösung von Kaliumcarbonat (49.2 mg, 358 μmol) in Wasser (2.7 mL) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bevor das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt wurde. Der Rückstand wurde in Wasser/Ethylacetat (1:1, 40 mL) aufgenommen, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (2×20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. 6-(Pyridin-4-ylmethoxy)hexan-1-ol (**87**) wurde als schwach gelbes Öl (142 mg, 95 %) erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.56 (dd, J = 6.1, 4.5 Hz, 2H, H-1), 7.27–7.25 (m, 2H, H-2), 4.51 (s, 2H, H-3), 3.64 (t, J = 6.5 Hz, 2H, H-9), 3.50 (t, J = 6.5 Hz, 2H, H-4), 1.68–1.56 (m, 4H, -CH₂), 1.42–1.39 (m, 4H, -CH₂). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 149.8 (C-1), 148.2 (C_{q, arom}), 121.9 (C-2), 71.3 (C-3), 71.2 (C-4), 63.0 (C-9), 32.8 (-CH₂), 29.8 (-CH₂), 26.1 (-CH₂), 25.7 (-CH₂). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3309, 2930, 2857, 1604, 1455, 1414, 1365, 1322, 1239, 1108, 1059, 999, 799, 728, 611, 478. **HRMS** (APCI⁺): C₁₂H₂₀N₁O₂ (M+H)⁺ berechnet: 210.1489, gefunden: 210.1488.

Darstellung des Pyridin-Derivates **94**

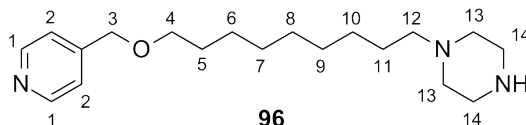


Eine Lösung von 4-Pyridinmethanol (**85**, 50.2 mg, 458 μ mol) in DMF (2.0 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und mit Natriumhydrid (60 % Mineralöldispersion, 27.0 mg, 687 μ mol) versetzt. Nach 15 Minuten wurde 1,9-Dibromnonan (**93**, 233 μ L, 1.15 mmol) zugetropft, das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt, 3.5 Stunden bei dieser Temperatur gerührt und mit Wasser (1.0 mL) versetzt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:1) gereinigt. Pyridin-Derivat **94** wurde als schwach gelbes Öl (79.3 mg, 55 %) erhalten.

DC: R_f = 0.23 (Hexan/Ethylacetat 1:1). **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.56 (dd, J = 6.0, 4.4 Hz, 2H, H-1), 7.27–7.25 (m, 2H, H-2), 4.51 (s, 2H, H-3), 3.49 (t, J = 6.5 Hz, 2H, H-4), 3.40 (t, J = 6.8 Hz, 2H, H-12), 1.89–1.80 (m, 2H, -CH₂), 1.68–1.59 (m, 2H, -CH₂), 1.44–1.31 (m, 10H, -CH₂). **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃): δ = 149.8 (C-1), 148.3 (C_{q, arom}), 121.9 (C-2), 71.29 (C-3), 71.25 (C-4), 34.1 (-CH₂), 32.9 (-CH₂), 29.8 (-CH₂), 29.48 (-CH₂), 29.46 (-CH₂), 28.8 (-CH₂), 28.3 (-CH₂), 26.3 (-CH₂). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2927, 2854, 1602, 1459, 1412, 1365, 1247, 1110, 797, 727, 642, 611, 560, 478. **HRMS** (ESI⁺): C₁₅H₂₅Br₁N₁O₁ (M+H)⁺ berechnet: 314.1114; 316.1095, gefunden: 314.1115; 316.1095.

5.3. Darstellung der Liganden

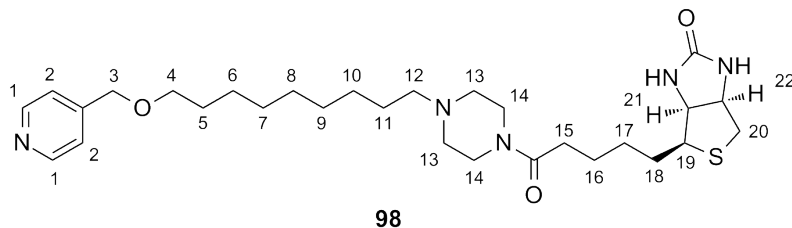
Darstellung des Pyridin-Derivates **96**



Zu einer Lösung des Pyridin-Derivates **94** (100 mg, 318 μ mol) und Piperazin (**95**, 110 mg, 1.27 mmol) in Acetonitril (3.0 mL) wurde Kaliumcarbonat (66.0 mg, 477 μ mol) zugeben und das Gemisch drei Stunden unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 10:1:0.1 \rightarrow Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 5:1:0.1) gereinigt. Pyridin-Derivat **96** wurde als gelbes Öl (95.8 mg, 94 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.15$ (Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 10:1:0.1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.56$ (dd, $J = 6.1, 4.7$ Hz, 2H, H-1), 7.26–7.24 (m, 2H, H-2), 4.51 (s, 2H, H-3), 3.74 (s, 1H, N-H), 3.49 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, H-4), 2.98–2.95 (m, 4H, H-13/H-14), 2.54–2.45 (m, 4H, H-13/H-14), 2.33 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, H-12), 1.67–1.58 (m, 2H, $-\text{CH}_2$), 1.52–1.41 (m, 2H, $-\text{CH}_2$), 1.40–1.22 (m, 10H, $-\text{CH}_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 150.0$ (C-1), 148.1 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 121.9 (C-2), 71.31 (C-3), 71.27 (C-4), 59.4 ($-\text{CH}_2$), 53.9 ($-\text{CH}_2$), 45.8 ($-\text{CH}_2$), 29.8 ($-\text{CH}_2$), 29.6 ($-\text{CH}_2$), 29.5 ($-\text{CH}_2$), 27.7 ($-\text{CH}_2$), 26.7 ($-\text{CH}_2$), 26.3 ($-\text{CH}_2$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 2925, 2852, 2806, 1603, 1454, 1413, 1367, 1319, 1110, 995, 798, 724, 608, 481$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_1$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ berechnet: 320.2707, gefunden: 320.2697.

Darstellung des Biotin-Liganden **98**

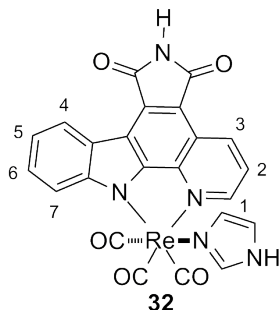


Pyridin-Derivat **96** (90.0 mg, 282 μmol) und Biotin-Derivat **97** (102 mg, 299 μmol) wurden durch leichtes Erwärmen in Chloroform/Isopropanol (2:1, 6.0 mL) gelöst. Triethylamin (59.0 μL , 423 μmol) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 27 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (basisches Aluminiumoxid, Dichlormethan/Methanol 20:1) gereinigt. Biotin-Ligand **98** wurde als schwach gelber Feststoff (126 mg, 84 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.39$ (basisches Aluminiumoxid, Dichlormethan/Methanol 10:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.56$ (dd, $J = 6.1, 4.5$ Hz, 2H, H-1), 7.26–7.24 (m, 2H, H-2), 5.61 (s, 1H, N-H), 5.00 (s, 1H, N-H), 4.53–4.49 (m, 3H, H-3, H-21/H-22), 4.33–4.30 (m, 1H, H-21/H-22), 3.67–3.47 (m, 6H, H-4, H-13/H-14), 3.20–3.14 (m, 1H, H-19), 2.91 (dd, $J = 12.8, 4.9$ Hz, 1H, H-20), 2.74 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H, H-20), 2.45–2.33 (m, 6H, H-12, H-13/H-14), 1.77–1.30 (m, 22H, $-\text{CH}_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.4$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 163.5 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 150.0 (C-1), 148.0 ($\text{C}_{\text{q, arom}}$), 121.9 (C-2), 71.29 (C-3), 71.27 (C-4), 62.0 (C_{aliph}), 60.3 (C_{aliph}), 58.7 (C_{aliph}), 55.5 (C_{aliph}), 53.6 (C_{aliph}), 53.0 (C_{aliph}), 40.7 (C_{aliph}), 32.7 (C_{aliph}), 29.8 (C_{aliph}), 29.61 (C_{aliph}), 29.59 (C_{aliph}), 29.5 (C_{aliph}), 28.44 (C_{aliph}), 28.42 (C_{aliph}), 27.6 (C_{aliph}), 26.3 (C_{aliph}), 25.2 (C_{aliph}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3228, 2924, 2853, 1699, 1623, 1463, 1432, 1366, 1317, 1263, 1230, 1114, 998, 797, 727, 595, 479$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}_1$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ berechnet: 546.3472, gefunden: 546.3472.

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **32**

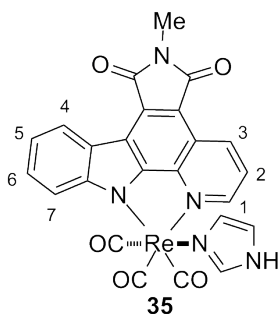


Zu einer Suspension des TBS-geschützten Pyridocarbazols **31** (16.2 mg, 40.5 μ mol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (16.1 mg, 44.5 μ mol) in Toluol (1.5 mL) wurde Imidazol (3.0 mg, 44.5 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 22 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (1.5 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TBAF (1 M in THF, 60.7 μ L, 60.7 μ mol) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und fünf Minuten gerührt. Es wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Essigsäure (3.47 μ L, 60.7 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt, fünf Minuten gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:1) gereinigt. **32** wurde als roter Feststoff (18.9 mg, 74 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.15$ (Hexan/Ethylacetat 1:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 12.56$ (s, 1H, N- $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 11.18 (s, 1H, N-H), 9.41 (dd, $J = 5.1, 1.3$ Hz, 1H, H-1), 9.27 (dd, $J = 8.5, 1.3$ Hz, 1H, H-3), 8.75 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-7), 7.95 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-4), 7.92 (dd, $J = 8.4, 5.1$ Hz, 1H, H-2), 7.66 (ddd, $J = 8.2, 7.0, 1.2$ Hz, 1H, H-5), 7.49 (dd, $J = 1.2, 1.1$ Hz, 1H, H- Imidazol), 7.40 (ddd, $J = 8.0, 7.2, 1.0$ Hz, 1H, H-6), 6.89 (dd, $J = 1.5, 1.4$ Hz, 1H, H- Imidazol), 6.32 (dd, $J = 1.4, 1.3$ Hz, 1H, H- Imidazol). **$^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 197.7$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 197.1 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 194.3 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 170.8 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 170.3 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 153.6 (C_{arom}), 152.2 (C_{arom}), 150.9 (C_{arom}), 141.3 (C_{arom}), 138.2 (C_{arom}), 135.4 (C_{arom}), 130.9 (C_{arom}), 127.8 (C_{arom}), 127.0 (C_{arom}), 124.4 (C_{arom}), 124.2 (C_{arom}).

123.2 (C_{arom}), 120.9 (C_{arom}), 119.9 (C_{arom}), 118.3 (C_{arom}), 115.4 (C_{arom}), 115.0 (C_{arom}), 114.0 (C_{arom}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3054, 2963, 2855, 2015, 1888, 1748, 1695, 1525, 1420, 1341, 1229, 1102, 795, 746, 707, 640, 490$. **HRMS** (ESI⁺): $C_{23}H_{12}N_5O_5Re_1Na_1$ (M+Na)⁺ berechnet: 648.0289, gefunden: 648.0286.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **35**



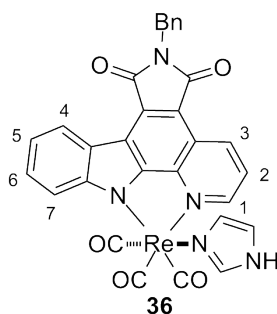
Zu einer Suspension des Methyl-geschützten Pyridocarbazols **33** (14.2 mg, 47.1 μmol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (19.6 mg, 54.2 μmol) in Toluol (2.0 mL) wurde Imidazol (3.7 mg, 54.2 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 120 °C erhitzt und 21 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:1) gereinigt. **35** wurde als roter Feststoff (17.0 mg, 54 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.19$ (Hexan/Ethylacetat 1:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 12.55$ (s, 1H, N-H_{Imidazol}), 9.40 (dd, $J = 5.1, 1.3$ Hz, 1H, H-1), 9.19 (dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz, 1H, H-3), 8.74 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H-7), 7.96 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-4), 7.89 (dd, $J = 8.4, 5.0$ Hz, 1H, H-2), 7.68 (ddd, $J = 8.4, 7.1, 1.2$ Hz, 1H, H-5), 7.50 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, H_{Imidazol}), 7.40 (ddd, $J = 8.0, 7.2, 0.8$ Hz, 1H, H-6), 6.93 (dd, $J = 2.4, 1.3$ Hz, 1H, H_{Imidazol}), 6.32 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, H_{Imidazol}), 3.07 (s, 3H, -CH₃). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 197.7$ ($C_{\text{Carbonyl-Re}}$), 197.1 ($C_{\text{Carbonyl-Re}}$), 194.3 ($C_{\text{Carbonyl-Re}}$), 169.3 (C_{Carbonyl}), 169.0 (C_{Carbonyl}), 153.6 (C_{arom}), 152.0 (C_{arom}), 151.0 (C_{arom}), 141.0 (C_{arom}), 138.2 (C_{arom}), 135.1 (C_{arom}), 130.0 (C_{arom}), 127.7 (C_{arom}), 127.0 (C_{arom}), 124.5 (C_{arom}), 124.1 (C_{arom}), 123.2 (C_{arom}), 120.8 (C_{arom}), 120.0 (C_{arom}), 118.3 (C_{arom}), 115.5 (C_{arom}), 115.1 (C_{arom}),

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

113.0 (C_{arom}), 23.6 ($-CH_3$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3260, 2016, 1909, 1746, 1685, 1442, 1413, 1228, 1071, 742$. **HRMS** (ESI^+): $C_{24}H_{14}N_5O_5Re_1Na_1$ ($M+Na$) $^+$ berechnet: 662.0445, gefunden: 662.0440.

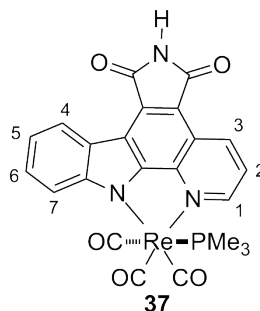
Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **36**



Eine Suspension des Benzyl-geschützten Pyridocarbazols **34** (17.5 mg, 46.2 μmol), von $ReCl(CO)_5$ (18.4 mg, 50.9 μmol) und Imidazol (3.4 mg, 50.9 μmol) in Toluol (2.0 mL) wurde für 22 Stunden bei 90 °C gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Dichlormethan) gereinigt. **36** wurde als roter Feststoff (18.0 mg, 55 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.45$ (Dichlormethan). **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 9.31$ (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-3), 9.15 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, H-1), 8.95 (s, 1H, N-H_{Imidazol}), 8.91 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-7), 8.06 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-4), 7.66 (ddd, $J = 8.0, 7.1, 1.1$ Hz, 1H, H-5), 7.60 (dd, $J = 8.5, 5.2$ Hz, 1H, H-2), 7.51–7.49 (m, 1H, H_{arom}), 7.49–7.46 (m, 1H, H_{arom}), 7.45–7.40 (m, 1H, H-6), 7.33–7.21 (m, 3H, H_{arom}), 6.86–6.83 (m, 1H, H_{Imidazol}), 6.70–6.67 (m, 1H, H_{Imidazol}), 6.65–6.62 (s, 1H, H_{Imidazol}), 4.93 (s, 2H, $-CH_2$). **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 154.8$ (C_{arom}), 151.9 (C_{arom}), 150.2 (C_{arom}), 137.2 (C_{arom}), 137.0 (C_{arom}), 135.9 (C_{arom}), 130.1 (C_{arom}), 128.8 (C_{arom}), 128.6 (C_{arom}), 127.8 (C_{arom}), 127.5 (C_{arom}), 125.0 (C_{arom}), 124.1 (C_{arom}), 123.1 (C_{arom}), 122.0 (C_{arom}), 117.2 (C_{arom}), 116.5 (C_{arom}), 41.6 ($-CH_2$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3142, 2924, 2014, 1886, 1745, 1687, 1582, 1490, 1418, 1384, 1334, 1228, 1069, 906, 797, 729, 700, 634$. **HRMS** (ESI^+): $C_{30}H_{18}N_5O_5Re_1Na_1$ ($M+Na$) $^+$ berechnet: 738.0759, gefunden: 738.0762.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **37**



Zu einer Suspension des TBS-geschützten Pyridocarbazols **31** (15.9 mg, 37.7 μmol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (14.8 mg, 41.1 μmol) in Toluol (2.0 mL) wurde 4-Trifluormethylpyridin (4.76 μL , 41.1 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 80 °C erhitzt und 19 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (2.0 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TBAF (1 M in THF, 56.4 μL , 56.4 μmol) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und fünf Minuten gerührt. Es wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Essigsäure (3.20 μL , 56.4 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt, fünf Minuten gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der entstandene Rhenium(I)-Komplex wurde säulenchromatographisch (Dichlormethan \rightarrow Dichlormethan/Methanol 50:1) gereinigt.

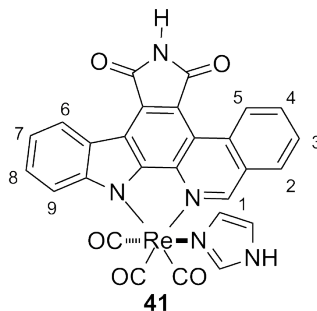
Der Rückstand wurde in THF/Methanol (4:1, 5.0 mL) aufgenommen, mit Trimethylphosphin (1 M in THF, 113 μL , 113 μmol) versetzt und das Reaktionsgemisch zwei Stunden bei 60 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Dichlormethan/Methanol 50:1) gereinigt. **37** wurde als roter Feststoff (13.7 mg, 58 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.33$ (Dichlormethan/Methanol 50:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 11.22$ (s, 1H, N-H), 9.32–9.29 (m, 2H, H-1, H-3), 8.76 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H-7), 7.94–7.90 (m, 1H, H-4), 7.80 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-2), 7.67–7.62 (m, 1H, H-5), 7.41–7.36 (m, 1H, H-6), 0.82 (d, $J = 9.3$ Hz, 9H, $-\text{CH}_3$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.1$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 170.3 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 153.4 (C_{arom}), 151.7 (C_{arom}), 150.5 (C_{arom}), 142.2 (C_{arom}),

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

134.8 (C_{arom}), 126.5 (C_{arom}), 124.4 (C_{arom}), 123.5 (C_{arom}), 122.9 (C_{arom}), 122.8 (C_{arom}), 121.5 (C_{arom}), 119.9 (C_{arom}), 116.1 (C_{arom}), 115.6 (C_{arom}), 112.9 (C_{arom}), 13.2 (-CH₃), 12.9 (-CH₃). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 2020, 1902, 1751, 1693, 1340, 1231, 955, 743, 635, 525, 492. **HRMS** (ESI⁺): C₂₃H₁₈N₃O₅P₁Re₁ (M+H)⁺ berechnet: 634.0537, gefunden: 634.0545.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **41**

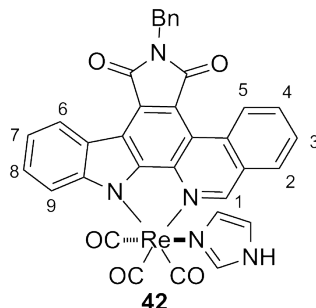


Zu einer Suspension des TBS-geschützten Isochinolinocarbazols **39** (12.0 mg, 26.6 μ mol) und von ReCl(CO)₅ (10.6 mg, 29.3 μ mol) in Toluol (1.0 mL) wurde Imidazol (2.0 mg, 29.3 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 18 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (1.0 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TBAF (1 M in THF, 39.9 μ L, 39.9 μ mol) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und fünf Minuten gerührt. Es wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Essigsäure (2.28 μ L, 39.9 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt, fünf Minuten gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:1) gereinigt. **41** wurde als roter Feststoff (8.6 mg, 46 %) erhalten.

DC: R_f = 0.17 (Hexan/Ethylacetat 1:1). **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.50 (s, 1H, N-H_{Imidazol}), 11.41 (s, 1H, N-H), 10.50 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, H_{arom}), 10.12 (s, 1H, H-1), 8.96 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, H_{arom}), 8.62 (dd, *J* = 8.1, 1.1 Hz, 1H, H_{arom}), 8.19 (ddd, *J* = 8.6, 7.0, 1.4 Hz, 1H, H_{arom}), 8.02–7.96 (m, 2H, H_{arom}), 7.71 (ddd, *J* = 8.3, 7.1, 1.3 Hz, 1H, H_{arom}), 7.57 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H_{Imidazol}), 7.39 (ddd, *J* = 8.0, 7.0, 0.9 Hz, 1H, H_{arom}), 6.87

(dd, $J = 2.5, 1.4$ Hz, 1H, H_{Imidazol}), 6.40 (dd, $J = 2.8, 1.5$ Hz, 1H, H_{Imidazol}). **¹³C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 197.9$ (C_{Carbonyl}-Re), 197.3 (C_{Carbonyl}-Re), 194.8 (C_{Carbonyl}-Re), 171.0 (C_{Carbonyl}), 169.8 (C_{Carbonyl}), 157.5 (C_{arom}), 155.0 (C_{arom}), 151.7 (C_{arom}), 138.2 (C_{arom}), 136.9 (C_{arom}), 133.6 (C_{arom}), 131.7 (C_{arom}), 131.5 (C_{arom}), 131.1 (C_{arom}), 129.0 (C_{arom}), 128.8 (C_{arom}), 127.8 (C_{arom}), 127.7 (C_{arom}), 127.6 (C_{arom}), 125.1 (C_{arom}), 122.9 (C_{arom}), 120.0 (C_{arom}), 119.6 (C_{arom}), 118.3 (C_{arom}), 116.6 (C_{arom}), 115.5 (C_{arom}), 115.0 (C_{arom}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3056, 2924, 2015, 1896, 1748, 1697, 1583, 1538, 1441, 1380, 1330, 1297, 1074, 804, 750, 695, 646$. **HRMS** (ESI⁺): C₂₇H₁₄N₅O₅Re₁Na₁ (M+Na)⁺ berechnet: 698.0446, gefunden: 698.0441.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **42**



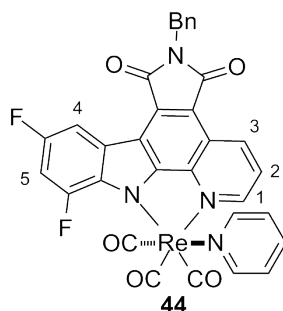
Zu einer Suspension des Benzyl-geschützten Isochinolinocarbazols **40** (29.9 mg, 69.9 μ mol) und von ReCl(CO)₅ (27.8 mg, 76.9 μ mol) in Toluol (2.0 mL) wurde Imidazol (5.2 mg, 76.9 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 18 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:1) gereinigt. **42** wurde als roter Feststoff (28.3 mg, 53 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.42$ (Hexan/Ethylacetat 1:1). **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 12.50$ (s, 1H, N-H_{Imidazol}), 10.47 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H_{arom}), 10.12 (s, 1H, H-1), 8.96 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.62 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.17 (ddd, $J = 8.4, 6.9, 1.3$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.02–7.96 (m, 2H, H_{arom}), 7.72 (ddd, $J = 8.1, 7.2, 1.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.57 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, H_{Imidazol}), 7.47–7.24 (m, 6H, H_{arom}), 6.87 (dd, $J = 2.2, 1.1$ Hz, 1H, H_{Imidazol}), 6.40

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

(d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H_{Imidazol}), 4.94 (s, 2H, -CH₂). **¹³C-NMR** (63 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 197.9$ (C_{Carbonyl}-Re), 197.2 (C_{Carbonyl}-Re), 194.7 (C_{Carbonyl}-Re), 169.2 (C_{Carbonyl}), 168.3 (C_{Carbonyl}), 157.5 (C_{arom}), 155.2 (C_{arom}), 151.8 (C_{arom}), 138.2 (C_{arom}), 137.1 (C_{arom}), 136.8 (C_{arom}), 133.6 (C_{arom}), 131.5 (C_{arom}), 131.1 (C_{arom}), 130.2 (C_{arom}), 128.9 (C_{arom}), 128.7 (C_{arom}), 128.5 (C_{arom}), 127.8 (C_{arom}), 127.7 (C_{arom}), 127.5 (C_{arom}), 127.3 (C_{arom}), 125.0 (C_{arom}), 122.8 (C_{arom}), 120.1 (C_{arom}), 119.8 (C_{arom}), 118.2 (C_{arom}), 116.9 (C_{arom}), 115.1 (C_{arom}), 114.0 (C_{arom}), 54.8 (-CH₂). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 2014, 1885, 1745, 1689, 1580, 1455, 1431, 1397, 1366, 1295, 1229, 1064, 744, 701$. **HRMS** (ESI⁺): C₃₄H₂₀N₅O₅Re₁Na₁ (M+Na)⁺ berechnet: 788.0916, gefunden: 788.0917.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes 44

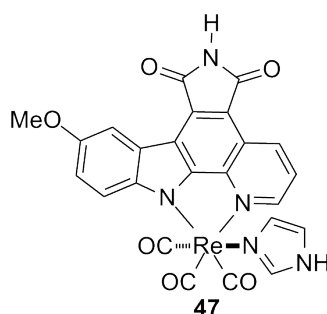


Zu einer Suspension des Benzyl-geschützten Pyridocarbazols (21.6 mg, 52.3 μ mol) und von ReCl(CO)₅ (20.8 mg, 57.5 μ mol) in Toluol (2.0 mL) wurde Pyridin (4.6 μ L, 57.5 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 18 Stunden unter Rückfluss gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Dichlormethan; Hexan/Ethylacetat 3:1 \rightarrow 1:1) gereinigt. **44** wurde als roter Feststoff (13.1 mg, 33 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.63$ (Dichlormethan). **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 9.40$ (dd, $J = 8.5, 1.3$ Hz, 1H, H-3), 9.30 (dd, $J = 5.0, 1.3$ Hz, 1H, H-1), 8.46 (dd, $J = 8.7, 2.3$ Hz, 1H, H-4), 8.27 (dd, $J = 6.5, 1.5$ Hz, 2H, H_{Pyridin}), 7.75 (dd, $J = 8.4, 5.3$ Hz, 1H, H-2), 7.58 (tt, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 1H, H-5), 7.50–7.46 (m, 2H, H_{Pyridin}), 7.34–7.17 (m, 4H, H_{arom}), 7.08–7.03 (m, 2H, H_{arom}), 4.92 (s, 2H, -CH₂). **¹³C-NMR** (63 MHz, CDCl₃): $\delta = 169.6$

(C_{Carbonyl}), 168.9 (C_{Carbonyl}), 154.9 (C_{arom}), 152.1 (C_{arom}), 152.0 (C_{arom}), 150.4 (C_{arom}), 142.6 (C_{arom}), 138.7 (C_{arom}), 136.9 (C_{arom}), 136.5 (C_{arom}), 131.1 (C_{arom}), 129.1 (C_{arom}), 128.8 (C_{arom}), 128.6 (C_{arom}), 123.8 (C_{arom}), 122.2 (C_{arom}), 113.9 (C_{arom}), 41.7 (-CH₂).
FT-IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2021, 1887, 1752, 1695, 1639, 1605, 1568, 1528, 1479, 1386, 1334, 1246, 1126, 1064, 982, 796, 754, 693, 629, 516, 482.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **47**



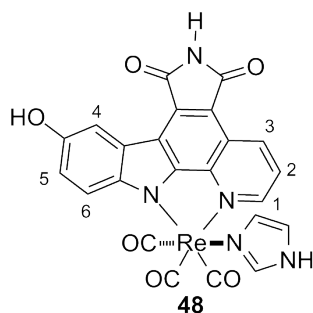
Zu einer Suspension des TBS-geschützten Pyridocarbazols **45** (28.6 mg, 66.4 μ mol) und von ReCl(CO)₅ (26.4 mg, 73.0 μ mol) in Toluol (3.0 mL) wurde Imidazol (5.0 mg, 73.0 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 24 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (4.0 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TBAF (1 M in THF, 100 μ L, 100 μ mol) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und fünf Minuten gerührt. Es wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Essigsäure (5.70 μ L, 100 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt, fünf Minuten gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:2) gereinigt. **47** wurde als roter Feststoff (23.9 mg, 55 %) erhalten.

DC: R_f = 0.19 (Hexan/Ethylacetat 1:2). **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.56 (s, 1H, N-H_{Imidazol}), 11.15 (s, 1H, N-H), 9.12 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, H_{arom}), 8.71 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H_{arom}), 8.60 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.91 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H_{arom}), 7.67–7.62 (m, 2H, H_{arom}, H_{Imidazol}), 7.36 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H_{arom}), 6.91–6.89 (m, 1H, H_{Imidazol}),

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

6.39–6.38 (m, 1H, H_{Imidazol}), 4.10 (s, 3H, -CH₃). **¹³C-NMR** (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 197.6 (C_{Carbonyl}-Re), 196.8 (C_{Carbonyl}-Re), 194.2 (C_{Carbonyl}-Re), 170.9 (C_{Carbonyl}), 170.2 (C_{Carbonyl}), 155.5 (C_{arom}), 154.2 (C_{arom}), 151.0 (C_{arom}), 144.6 (C_{arom}), 138.4 (C_{arom}), 136.1 (C_{arom}), 131.0 (C_{arom}), 127.9 (C_{arom}), 126.7 (C_{arom}), 124.0 (C_{arom}), 123.3 (C_{arom}), 121.6 (C_{arom}), 119.8 (C_{arom}), 118.2 (C_{arom}), 115.1 (C_{arom}), 113.8 (C_{arom}), 113.5 (C_{arom}), 112.8 (C_{arom}), 56.4 (-CH₃). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu}$ = 3148, 2011, 1871, 1750, 1696, 1574, 1519, 1483, 1450, 1409, 1266, 1225, 1076, 1022, 871, 823, 770, 736, 710, 638, 532. **HRMS** (ESI⁺): C₂₄H₁₄N₅O₆Re₁Na₁ (M+Na)⁺ berechnet: 678.0395, gefunden: 678.0401.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes 48



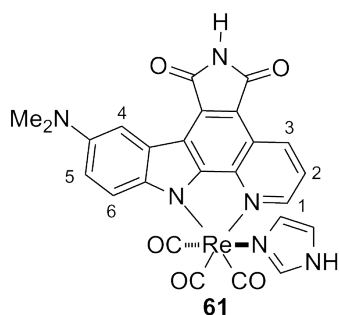
Zu einer Suspension des zweifach TBS-geschützten Pyridocarbazols **46** (33.3 mg, 62.6 μ mol) und von ReCl(CO)₅ (24.9 mg, 68.8 μ mol) in Toluol (2.5 mL) wurde Imidazol (4.7 mg, 68.8 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 24 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Dichlormethan → Dichlormethan/Methanol 50:1) gereinigt. Dabei wurden zwei Verbindungen isoliert, wobei es sich bei der ersten um die zweifach-geschützte Verbindung handelte. Die zweite Verbindung konnte als lediglich mono-geschützter Rhenium(I)-Komplex identifiziert werden.

Die beiden Verbindungen wurden jeweils in Dichlormethan (3.0 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TBAF (1 M in THF, 134 μ L, 134 μ mol) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und 20 Minuten gerührt. Es wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Essigsäure (10.4 μ L, 134 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch

wurde auf Raumtemperatur erwärmt, fünf Minuten gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Die vereinigten Fraktionen wurden säulenchromatographisch (Dichlormethan/Methanol 20:1) gereinigt. **48** wurde als violetter Feststoff (31.5 mg, 78 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.18$ (Dichlormethan/Methanol 10:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 12.55$ (s, 1H, N- $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 11.11 (s, 1H, N-H), 9.35–9.30 (m, 2H, H-1, O-H), 9.21 (dd, $J = 8.5, 1.3$ Hz, 1H, H-3), 8.18 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H-4), 7.86 (dd, $J = 8.5, 5.0$ Hz, 1H, H-2), 7.77 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H-6), 7.46 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 7.19 (dd, $J = 8.7, 2.5$ Hz, 1H, H-5), 6.90 (dd, $J = 2.5, 1.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 6.33 (dd, $J = 2.7, 1.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 197.8$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 197.3 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 194.3 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 170.8 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 170.4 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 153.6 (C_{arom}), 151.8 (C_{arom}), 151.5 (C_{arom}), 145.3 (C_{arom}), 141.6 (C_{arom}), 138.1 (C_{arom}), 135.1 (C_{arom}), 131.2 (C_{arom}), 127.8 (C_{arom}), 124.1 (C_{arom}), 123.9 (C_{arom}), 120.9 (C_{arom}), 118.3 (C_{arom}), 117.2 (C_{arom}), 115.8 (C_{arom}), 114.7 (C_{arom}), 112.6 (C_{arom}), 108.3 (C_{arom}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3132, 3049, 2010, 1873, 1747, 1695, 1597, 1559, 1526, 1491, 1469, 1418, 1333, 1213, 1127, 1072, 993, 859, 795, 751, 695, 634, 535, 489$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{23}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6\text{Re}_1\text{Na}_1$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ berechnet: 664.0239, gefunden: 664.0227.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **61**



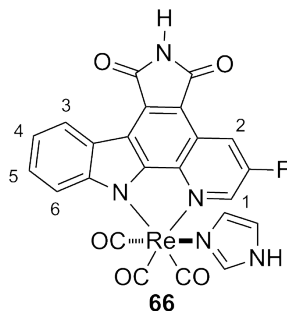
Zu einer Suspension des TBS-geschützten Pyridocarbazols **59** (20.0 mg, 45.0 μmol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (26.4 mg, 73.0 μmol) in Toluol (2.0 mL) wurde Imidazol (3.4 mg, 49.5 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 80 °C erhitzt und 19 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach dunkelrot beobachtet

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (2.0 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TBAF (1 M in THF, 67.5 μ L, 67.5 μ mol) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und fünf Minuten gerührt. Es wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Essigsäure (3.86 μ L, 67.5 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt, fünf Minuten gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:1 \rightarrow Ethylacetat; Dichlormethan/Methanol 20:1) gereinigt. **61** wurde als schwarzer Feststoff (5.9 mg, 20 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.15$ (Dichlormethan/Methanol 20:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 12.54$ (s, 1H, N-H_{Imidazol}), 11.09 (s, 1H, N-H), 9.32 (dd, $J = 5.1, 1.2$ Hz, 1H, H-1), 9.20 (dd, $J = 8.4, 1.2$ Hz, 1H, H-3), 8.15 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H-4), 7.87–7.80 (m, 2H, H-2, H-6), 7.45–7.43 (m, 1H, H_{Imidazol}), 7.35 (dd, $J = 9.1, 2.7$ Hz, 1H, H-5), 6.91–6.88 (m, 1H, H_{Imidazol}), 6.33–6.30 (m, 1H, H_{Imidazol}), 3.02 (s, 6H, -CH₃). **$^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 197.8$ (C_{Carbonyl}-Re), 197.3 (C_{Carbonyl}-Re), 194.3 (C_{Carbonyl}-Re), 170.8 (C_{Carbonyl}), 170.4 (C_{Carbonyl}), 153.3 (C_{arom}), 151.4 (C_{arom}), 146.1 (C_{arom}), 144.5 (C_{arom}), 141.6 (C_{arom}), 138.1 (C_{arom}), 135.0 (C_{arom}), 131.2 (C_{arom}), 127.8 (C_{arom}), 124.0 (C_{arom}), 123.9 (C_{arom}), 120.9 (C_{arom}), 118.3 (C_{arom}), 116.6 (C_{arom}), 115.6 (C_{arom}), 115.0 (C_{arom}), 112.4 (C_{arom}), 106.9 (C_{arom}), 41.7 (-CH₃). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3152, 3049, 2959, 2924, 2852, 2014, 1893, 1746, 1691, 1595, 1489, 1423, 1340, 1262, 1232, 1070, 1022, 798, 640$. **HRMS** (ESI⁺): C₂₅H₁₈N₆O₅Re₁ (M+H)⁺ berechnet: 669.0892, gefunden: 669.0885.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **66**^[128]

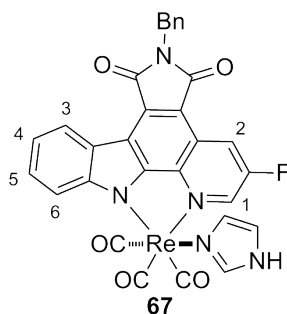


Zu einer Suspension des TBS-geschützten Pyridocarbazols **62** (14.2 mg, 33.8 μmol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (34.1 mg, 94.3 μmol) in Toluol (1.5 mL) wurde Imidazol (2.5 mg, 37.2 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 18 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (2.0 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TBAF (1 M in THF, 50.7 μL , 50.7 μmol) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und fünf Minuten gerührt. Es wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Essigsäure (2.90 μL , 50.7 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt, fünf Minuten gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:1; Dichlormethan/Methanol 50:1) gereinigt. **66** wurde als roter Feststoff (10.7 mg, 49 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.23$ (Hexan/Ethylacetat 1:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 12.58$ (s, 1H, N- $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 11.24 (s, 1H, N-H), 9.51 (t, $J = 2.5$ Hz, 1H, H-1), 8.93 (dd, $J = 9.2$, 2.5 Hz, 1H, H-3), 8.74 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H-6), 7.97 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-2), 7.69 (ddd, $J = 8.3$, 7.1, 1.2 Hz, 1H, H-4), 7.63 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 7.41 (ddd, $J = 8.0$, 7.2, 0.8 Hz, 1H, H-5), 6.91 (dd, $J = 2.6$, 1.4 Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 6.41 (dd, $J = 2.7$, 1.5 Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 197.4$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 196.5 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 193.8 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 170.5 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 169.9 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 157.5 (d, $J = 250.4$ Hz, C_{arom}), 153.5 (C_{arom}), 151.0 (C_{arom}), 143.1 (d, $J = 32.7$ Hz, C_{arom}), 138.6 (C_{arom}), 138.5 (C_{arom}), 131.5 (C_{arom}), 128.0 (C_{arom}), 127.1 (C_{arom}), 124.3 (C_{arom}), 123.2 (C_{arom}), 120.7 (d, $J = 8.6$ Hz, C_{arom}), 120.2 (C_{arom}), 119.4 (d, $J = 19.7$ Hz, C_{arom}), 118.3 (C_{arom}), 115.4 (C_{arom}), 114.8 (C_{arom}), 113.3 (d, $J = 5.4$ Hz, C_{arom}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3220, 2961, 2927, 2020, 1900, 1750, 1700, 1565, 1493, 1409, 1341, 1260, 1226, 1073, 1024, 801, 746, 706, 641, 521, 488, 461$. **HRMS** (APCI^+): $\text{C}_{23}\text{H}_{12}\text{F}_1\text{N}_5\text{O}_5\text{Re}_1$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ berechnet: 644.0375, gefunden: 644.0366.

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

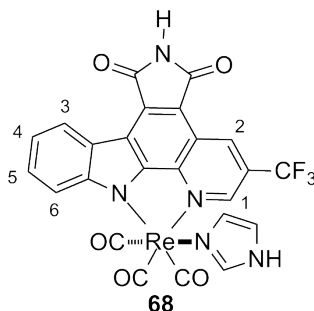
Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **67**^[128]



Zu einer Suspension des Benzyl-geschützten Pyridocarbazols **63** (16.7 mg, 42.2 μ mol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (23.5 mg, 65.0 μ mol) in Toluol (1.7 mL) wurde Imidazol (3.2 mg, 46.5 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 16 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 2:1) gereinigt. **67** wurde als roter Feststoff (9.7 mg, 31 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.28$ (Hexan/Ethylacetat 2:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 12.59$ (s, 1H, N- $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 9.65 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, H-1), 9.47–9.46 (m, 1H, H-2), 8.79 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-6), 8.03 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-3), 7.79–7.73 (m, 2H, H-4, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 7.47 (ddd, $J = 7.9, 7.2, 0.7$ Hz, 1H, H-5), 7.41–7.23 (m, 5H, H_{arom}), 6.89 (dd, $J = 2.6, 1.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 6.39 (dd, $J = 2.7, 1.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 4.86 (s, 2H, $-\text{CH}_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (100 MHz, CDCl_3): $\delta = 197.8$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 196.9 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 192.7 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 169.7 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 169.0 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 158.1 (d, $J = 252.8$ Hz, C_{arom}), 154.7 (C_{arom}), 151.9 (C_{arom}), 140.6 (d, $J = 33.5$ Hz, C_{arom}), 139.5 (C_{arom}), 137.1 (C_{arom}), 131.5 (C_{arom}), 130.1 (C_{arom}), 128.8 (C_{arom}), 128.7 (C_{arom}), 127.9 (C_{arom}), 127.7 (C_{arom}), 125.9 (C_{arom}), 124.0 (C_{arom}), 121.9 (d, $J = 8.6$ Hz, C_{arom}), 121.2 (C_{arom}), 120.3 (d, $J = 19.5$ Hz, C_{arom}), 117.3 (C_{arom}), 116.8 (C_{arom}), 116.4 (C_{arom}), 112.3 (d, $J = 5.4$ Hz, C_{arom}), 41.7 ($-\text{CH}_2$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3394, 2015, 1913, 1746, 1685, 1561, 1490, 1386, 1330, 1260, 1203, 1102, 1066, 978, 888, 825, 740, 694, 631, 601, 483$. **HRMS** (APCI^+): $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{F}_1\text{N}_5\text{O}_5\text{Re}_1$ ($\text{M}+\text{H}$)⁺ berechnet: 734.0834, gefunden: 734.0845.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **68**^[128]



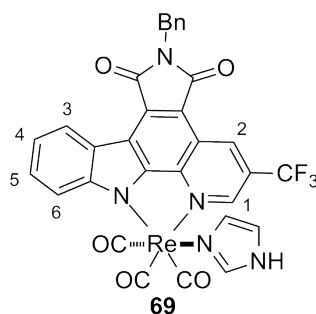
Zu einer Suspension des TBS-geschützten Pyridocarbazols **64** (12.1 mg, 25.8 μmol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (21.4 mg, 59.2 μmol) in Toluol (1.2 mL) wurde Imidazol (1.9 mg, 28.3 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 20 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (2.0 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TBAF (1 M in THF, 38.7 μL , 38.7 μmol) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und fünf Minuten gerührt. Es wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Essigsäure (2.21 μL , 38.7 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt, fünf Minuten gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 2:1) gereinigt. **68** wurde als roter Feststoff (13.2 mg, 74 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.15$ (Hexan/Ethylacetat 2:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 12.58$ (s, 1H, N- $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 11.36 (s, 1H, N-H), 9.64 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, H-1), 9.47 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, H-2), 8.78 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-6), 8.02 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-3), 7.77–7.72 (m, 2H, H-4, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 7.46 (ddd, $J = 7.9, 7.0, 0.9$ Hz, 1H, H-5), 6.89 (dd, $J = 2.5, 1.3$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$), 6.39 (dd, $J = 2.7, 1.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Imidazol}}$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 197.3$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 196.4 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 193.5 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 170.5 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 169.9 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 152.6 (C_{arom}), 151.3 (C_{arom}), 147.7 (C_{arom}), 142.3 (C_{arom}), 138.7 (C_{arom}), 132.8 (C_{arom}), 131.7 (C_{arom}), 127.9 (C_{arom}), 127.7 (C_{arom}), 124.7 (C_{arom}), 124.5 (C_{arom}), 124.3 (C_{arom}), 123.1 (C_{arom}), 120.6 (C_{arom}), 119.1 (C_{arom}), 118.3 (C_{arom}), 116.5 (C_{arom}), 115.7 (C_{arom}), 114.4 (C_{arom}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3137, 2924, 2854, 2015, 1884, 1750, 1703,$

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

1613, 1580, 1489, 1416, 1326, 1252, 1168, 1132, 1084, 1020, 913, 816, 745, 707, 636, 528, 491, 439. **HRMS** (APCI⁺): C₂₄H₁₂F₃N₅O₅Re₁ (M+H)⁺ berechnet: 694.0333, gefunden: 694.0343.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes 69^[128]

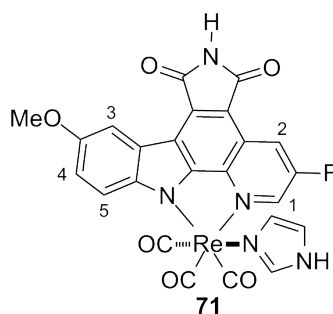


Zu einer Suspension des Benzyl-geschützten Pyridocarbazols **65** (13.2 mg, 29.6 μ mol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (23.6 mg, 65.2 μ mol) in Toluol (1.3 mL) wurde Imidazol (2.2 mg, 32.6 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 16 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 3:1 \rightarrow 2:1) gereinigt. **69** wurde als roter Feststoff (14.0 mg, 60 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.27$ (Hexan/Ethylacetat 2:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 12.59$ (s, 1H, N-H_{Imidazol}), 9.50 (t, $J = 2.5$ Hz, 1H, H-1), 8.92 (dd, $J = 9.1$, 2.4 Hz, 1H, H-2), 8.74 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H-6), 7.98 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-3), 7.70 (ddd, $J = 8.3$, 7.2, 1.3 Hz, 1H, H-4), 7.64 (dd, $J = 2.5$, 1.2 Hz, 1H, H_{Imidazol}), 7.44–7.23 (m, 6H, H-5, H_{arom}), 6.90 (dd, $J = 2.6$, 1.4 Hz, 1H, H_{Imidazol}), 6.41 (dd, $J = 2.7$, 1.4 Hz, 1H, H_{Imidazol}), 4.84 (s, 2H, -CH₂). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 197.4$ (C_{Carbonyl-Re}), 196.4 (C_{Carbonyl-Re}), 193.8 (C_{Carbonyl-Re}), 168.8 (C_{Carbonyl}), 168.4 (C_{Carbonyl}), 155.9 (C_{arom}), 153.7 (C_{arom}), 151.1 (C_{arom}), 143.2 (d, $J = 33.7$ Hz, C_{arom}), 138.5 (C_{arom}), 137.0 (C_{arom}), 130.4 (C_{arom}), 128.5 (C_{arom}), 128.0 (C_{arom}), 127.4 (C_{arom}), 127.3 (C_{arom}), 124.2 (C_{arom}), 123.1 (C_{arom}), 120.6 (d, $J = 8.0$ Hz, C_{arom}), 120.4 (C_{arom}), 119.4 (d, $J = 19.3$ Hz, C_{arom}), 118.3 (C_{arom}), 115.5 (C_{arom}), 115.1 (C_{arom}), 112.2 (C_{arom}), 40.8 (-CH₂). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3303$, 2016,

1891, 1745, 1684, 1612, 1582, 1492, 1430, 1390, 1352, 1324, 1300, 1257, 1232, 1167, 1137, 1073, 957, 912, 815, 730, 699, 639, 528, 492, 458. **HRMS** (APCI⁺): C₃₁H₁₈F₃N₅O₅Re₁ (M+H)⁺ berechnet: 784.0803, gefunden: 784.0811.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **71**



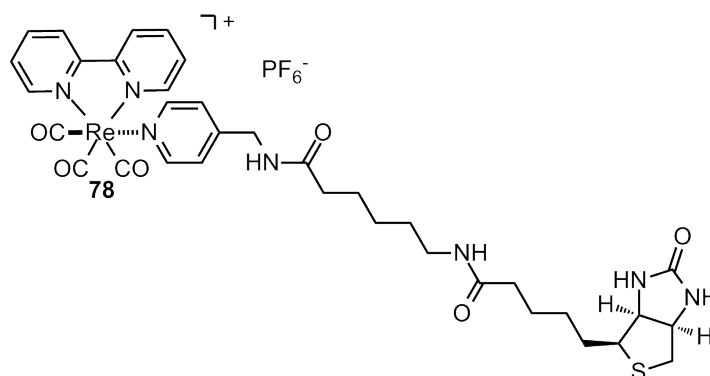
Zu einer Suspension des TBS-geschützten Pyridocarbazols **70** (11.3 mg, 25.1 μ mol) und von ReCl(CO)₅ (10.0 mg, 27.6 μ mol) in Toluol (1.5 mL) wurde Imidazol (1.9 mg, 27.6 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 22 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (2.0 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TBAF (1 M in THF, 37.7 μ L, 37.7 μ mol) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und fünf Minuten gerührt. Es wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Essigsäure (2.20 μ L, 37.7 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt, fünf Minuten gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:1) gereinigt. **71** wurde als violetter Feststoff (13.5 mg, 80 %) erhalten.

DC: R_f = 0.22 (Hexan/Ethylacetat 1:1). **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 12.59 (s, 1H, N-H_{Imidazol}), 11.22 (s, 1H, N-H), 9.46 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, H-1), 8.90 (dd, *J* = 9.2, 2.4 Hz, 1H, H-2), 8.27 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, H-3), 7.87 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-5), 7.62–7.60 (m, 1H, H_{Imidazol}), 7.36 (dd, *J* = 8.8, 2.6 Hz, 1H, H-4), 6.92–6.90 (m, 1H, H_{Imidazol}), 6.40–6.38 (m, 1H, H_{Imidazol}), 3.92 (s, 3H, -CH₃). **¹³C-NMR** (63 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 197.5 (C_{Carbonyl}-Re), 196.5 (C_{Carbonyl}-Re), 193.8 (C_{Carbonyl}-Re), 170.6 (C_{Carbonyl}),

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

170.0 (C_{Carbonyl}), 157.4 (d, $J = 250.7$ Hz, C_{arom}), 154.2 (C_{arom}), 153.5 (C_{arom}), 146.0 (C_{arom}), 142.6 (d, $J = 34.2$ Hz, C_{arom}), 138.0 (C_{arom}), 138.5 (C_{arom}), 131.8 (C_{arom}), 128.0 (C_{arom}), 123.4 (C_{arom}), 120.7 (d, $J = 8.7$ Hz, C_{arom}), 119.4 (d, $J = 19.7$ Hz, C_{arom}), 118.3 (C_{arom}), 116.9 (C_{arom}), 116.0 (C_{arom}), 114.7 (C_{arom}), 112.7 (d, $J = 4.7$ Hz, C_{arom}), 106.1 (C_{arom}), 55.6 ($-CH_3$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3137, 3037, 2926, 2014, 1883, 1748, 1693, 1561, 1492, 1468, 1404, 1332, 1281, 1200, 1020, 809, 751, 695, 635, 479$. **HRMS** (ESI⁺): $C_{24}H_{13}F_1N_5O_6Re_1$ (M)⁺ berechnet: 673.0404, gefunden: 673.0399.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **78**



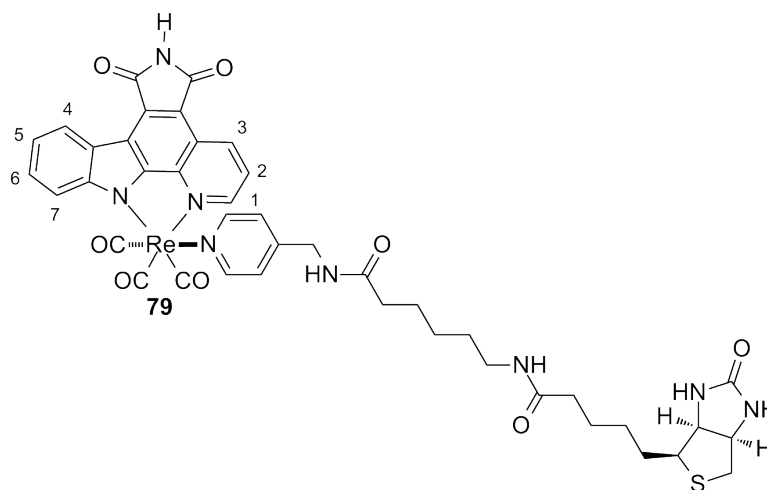
Eine Suspension von $ReCl(CO)_5$ (13.3 mg, 36.8 μ mol) und 2,2'-Bipyridin (**77**, 6.3 mg, 40.4 μ mol) in Toluol (2.0 mL) wurde 18 Stunden auf 80 °C erhitzt, wobei ein Farbumschlag von farblos nach gelb beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand mit Diethylether (2.0 mL) gewaschen und in Acetonitril (3.0 mL) gelöst. Silbertriflat (11.8 mg, 46.0 μ mol) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch 22 Stunden unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das entstandene Silberchlorid abfiltriert und mit Acetonitril (5.0 mL) extrahiert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und der Rückstand in THF/Methanol (4:1, 5.6 mL) gelöst. Nach Zugabe des Biotin-Liganden **76** (16.5 mg, 36.8 μ mol) wurde das Reaktionsgemisch 19 Stunden unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (Acetonitril/Wasser/gesättigte Kaliumnitrat-Lösung 50:3:1 → Acetonitril/Wasser/gesättigte Kaliumnitrat-Lösung 50:6:2) gereinigt. Der erhaltene schwach gelbe Feststoff wurde in wenig Wasser gelöst,

mit einer gesättigten Ammoniumhexafluorophosphat-Lösung ausgefällt und zentrifugiert (4 °C, 4000 Upm, 10 Minuten). Der Überstand wurde abdekantiert, der Feststoff zweimal mit wenig Wasser gewaschen und im Feinvakuum getrocknet. **78** wurde als gelber Feststoff (20.3 mg, 54 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.29$ (Acetonitril/Wasser/gesättigte Kaliumnitrat-Lösung 50:6:2). **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 9.32$ (d, $J = 5.0$ Hz, 2H, H_{arom}), 8.71 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H_{arom}), 8.43–8.31 (m, 5H, H_{arom} , N-H), 7.93–7.88 (m, 2H, H_{arom}), 7.76–7.72 (m, 1H, N-H), 7.23 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H, H_{arom}), 6.43 (s, 1H, N- H_{Biotin}), 6.38 (s, 1H, N- H_{Biotin}), 4.32–4.10 (m, 4H, H_{Benzyl} , NCH H_{Biotin}), 3.12–3.05 (m, 1H, SCH), 2.97 (dd, $J = 12.3, 6.3$ Hz, 2H, -CH $_2$ -NH-Biotin), 2.81 (dd, $J = 12.5, 5.0$ Hz, 1H, SCH), 2.56 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H, SCH), 2.12–2.01 (m, 4H, -CH $_2$), 1.61–1.29 (m, 12H, -CH $_2$). **¹³C-NMR** (125 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 195.5$ (C $_{\text{Carbonyl-Re}}$), 192.1 (C $_{\text{Carbonyl-Re}}$), 172.6 (C $_{\text{Carbonyl}}$), 171.8 (C $_{\text{Carbonyl}}$), 162.7 (C $_{\text{Carbonyl}}$), 155.0 (C $_{\text{arom}}$), 154.0 (C $_{\text{arom}}$), 153.8 (C $_{\text{arom}}$), 151.5 (C $_{\text{arom}}$), 141.4 (C $_{\text{arom}}$), 129.1 (C $_{\text{arom}}$), 124.9 (C $_{\text{arom}}$), 124.7 (C $_{\text{arom}}$), 61.0 (C $_{\text{aliph}}$), 59.2 (C $_{\text{aliph}}$), 55.4 (C $_{\text{aliph}}$), 40.9 (C $_{\text{aliph}}$), 38.2 (C $_{\text{aliph}}$), 35.2 (C $_{\text{aliph}}$), 35.0 (C $_{\text{aliph}}$), 28.9 (C $_{\text{aliph}}$), 28.2 (C $_{\text{aliph}}$), 28.0 (C $_{\text{aliph}}$), 26.0 (C $_{\text{aliph}}$), 25.3 (C $_{\text{aliph}}$), 24.8 (C $_{\text{aliph}}$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3278, 2933, 2862, 2029, 1909, 1689, 1646, 1545, 1445, 1325, 1025, 1001, 837, 767, 623, 554, 481$. **HRMS** (ESI $^+$): C $_{35}$ H $_{41}$ N $_7$ O $_6$ Re $_1$ S $_1$ (M $^+$ –PF $_6$) berechnet: 874.2391, gefunden: 874.2391.

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **79**

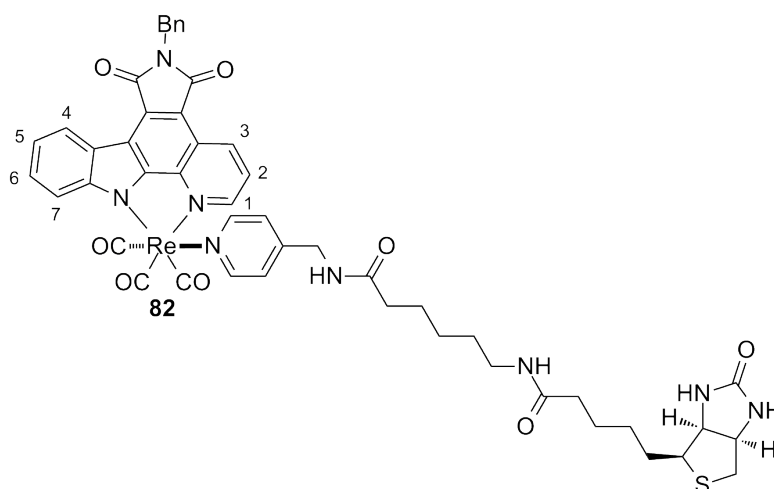


Zu einer Suspension des TBS-geschützten Pyridocarbazols **31** (29.3 mg, 72.9 μmol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (29.0 mg, 80.2 μmol) in Toluol (3.0 mL) wurde 4-Trifluormethylpyridin (9.3 μL , 80.2 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 18 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (3.0 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TBAF (1 M in THF, 109 μL , 109 μmol) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und fünf Minuten gerührt. Es wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Essigsäure (6.25 μL , 109 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt, fünf Minuten gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der entstandene Rhenium(I)-Komplex wurde säulenchromatographisch (Dichlormethan) gereinigt.

Der Rückstand wurde in THF/Methanol (4:1, 10 mL) aufgenommen, Biotin-Ligand **76** (35.9 mg, 80.2 μmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch zwei Stunden bei 60 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Dichlormethan/Methanol 7:1) gereinigt. **79** wurde als roter Feststoff (29.2 mg, 40 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.37$ (Dichlormethan/Methanol 5:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 11.18$ (s, 1H, N-H_{Imid}), 9.54 (dd, $J = 5.0, 1.1$ Hz, 1H, H-1), 9.30 (dd, $J = 8.4, 1.1$ Hz, 1H, H-3), 8.76 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H-7), 8.24–8.16 (m, 3H, H_{Pyridin}, N-H), 8.03 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-4), 7.98 (dd, $J = 8.5, 5.0$ Hz, 1H, H-2), 7.75–7.67 (m, 2H, H-5, N-H), 7.42 (ddd, $J = 7.9, 7.2, 0.7$ Hz, 1H, H-6), 7.07 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H, H_{Pyridin}), 6.41 (s, 1H, N-H_{Biotin}), 6.35 (s, 1H, N-H_{Biotin}), 4.28 (dd, $J = 7.6, 5.2$ Hz, 1H, NCH_{Biotin}), 4.12–4.05 (m, 3H, H_{Benzyl}, NCH_{Biotin}), 3.09–3.03 (m, 1H, SCH), 2.94 (dd, $J = 12.3, 6.6$ Hz, 2H, -CH₂-NH-Biotin), 2.79 (dd, $J = 12.4, 5.2$ Hz, 1H, SCH), 2.56 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H, SCH), 2.05–1.99 (m, 4H, -CH₂), 1.60–1.08 (m, 12H, -CH₂). **$^{13}\text{C-NMR}$** (63 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 197.3$ (C_{Carbonyl}-Re), 196.8 (C_{Carbonyl}-Re), 193.8 (C_{Carbonyl}-Re), 172.5 (C_{Carbonyl}), 171.7 (C_{Carbonyl}), 170.7 (C_{Carbonyl}), 170.2 (C_{Carbonyl}), 162.7 (C_{Carbonyl}), 153.4 (C_{arom}), 153.1 (C_{arom}), 152.5 (C_{arom}), 151.4 (C_{arom}), 150.8 (C_{arom}), 141.2 (C_{arom}), 135.8 (C_{arom}), 130.9 (C_{arom}), 127.2 (C_{arom}), 124.7 (C_{arom}), 124.4 (C_{arom}), 124.3 (C_{arom}), 123.4 (C_{arom}), 120.9 (C_{arom}), 120.2 (C_{arom}), 115.2 (C_{arom}), 114.4 (C_{arom}), 61.0 (C_{aliph}), 59.2 (C_{aliph}), 55.4 (C_{aliph}), 35.2 (C_{aliph}), 34.9 (C_{aliph}), 28.9 (C_{aliph}), 28.2 (C_{aliph}), 28.0 (C_{aliph}), 26.1 (C_{aliph}), 25.3 (C_{aliph}), 24.7 (C_{aliph}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3268, 2927, 2016, 1886, 1751, 1695, 1647, 1524, 1486, 1418, 1338, 1264, 1228, 1171, 1020, 746, 636, 486$. **HRMS** (ESI⁺): C₄₂H₄₁N₈O₈Re₁S₁Na₁ (M+Na)⁺ berechnet: 1027.2218, gefunden: 1027.2208.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes 82



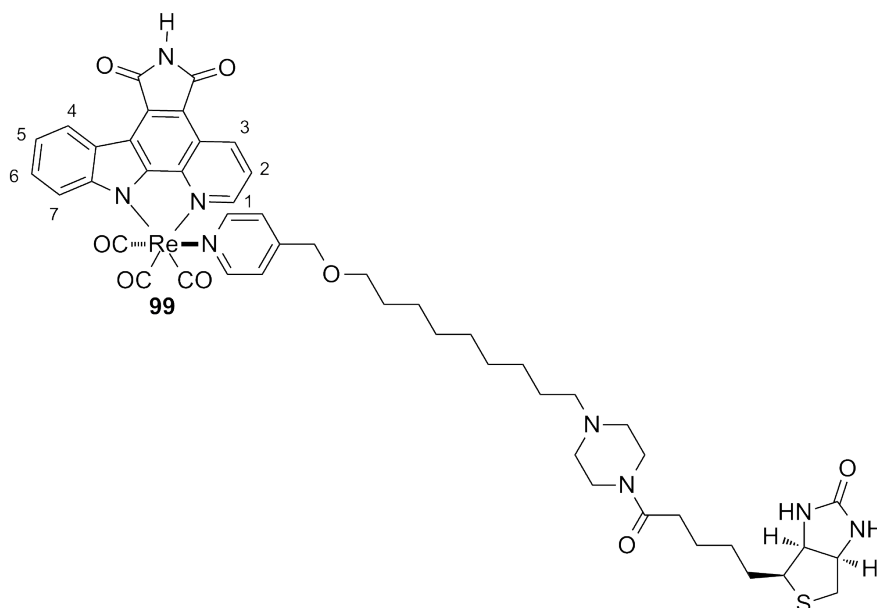
5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

Zu einer Suspension des Benzyl-geschützten Pyridocarbazols **80** (15.0 mg, 39.7 μ mol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (15.8 mg, 43.7 μ mol) in Toluol (1.5 mL) wurde 4-Trifluormethylpyridin (5.1 μ L, 43.7 μ mol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 17 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der entstandene Rhenium(I)-Komplex wurde säulenchromatographisch (Dichlormethan) gereinigt.

Der Rückstand wurde in THF/Methanol (4:1, 5.0 mL) aufgenommen, Biotin-Ligand **76** (19.5 mg, 43.7 μ mol) zugegeben und das Reaktionsgemisch drei Stunden bei 60 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Dichlormethan/Methanol 10:1) gereinigt. **82** wurde als roter Feststoff (8.9 mg, 20 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.32$ (Dichlormethan/Methanol 10:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 9.55$ (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, H-1), 9.30 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-3), 8.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-7), 8.22 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{H}_{\text{Pyridin}}$), 8.19–8.15 (m, 1H, N-H), 8.04 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, H-4), 8.00 (dd, $J = 8.5, 5.0$ Hz, 1H, H-2), 7.76–7.66 (m, 2H, N-H, H-5), 7.46–7.23 (m, 6H, H-6, H_{arom}), 7.06 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H, $\text{H}_{\text{Pyridin}}$), 6.40 (s, 1H, N- H_{Biotin}), 6.34 (s, 1H, N- H_{Biotin}), 4.86 (s, 2H, H_{Benzyl}), 4.30–4.26 (m, 1H, $\text{NCH}_{\text{Biotin}}$), 4.11–3.98 (m, 3H, H_{Benzyl} , $\text{NCH}_{\text{Biotin}}$), 3.09–3.03 (m, 1H, SCH), 2.93 (dd, $J = 12.5, 6.4$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2\text{-NH-Biotin}$), 2.79 (dd, $J = 12.5, 5.0$ Hz, 1H, SCH), 2.55 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H, SCH), 2.03–1.99 (m, 4H, $-\text{CH}_2$), 1.49–1.12 (m, 12H, $-\text{CH}_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (63 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 172.5$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 171.7 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 169.0 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 168.6 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 162.7 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 153.6 (C_{arom}), 153.1 (C_{arom}), 152.6 (C_{arom}), 151.4 (C_{arom}), 150.8 (C_{arom}), 141.0 (C_{arom}), 137.1 (C_{arom}), 135.8 (C_{arom}), 129.9 (C_{arom}), 128.5 (C_{arom}), 127.5 (C_{arom}), 127.3 (C_{arom}), 124.9 (C_{arom}), 124.3 (C_{arom}), 123.3 (C_{arom}), 120.9 (C_{arom}), 120.4 (C_{arom}), 115.4 (C_{arom}), 115.3 (C_{arom}), 113.2 (C_{arom}), 61.0 (C_{aliph}), 59.2 (C_{aliph}), 55.4 (C_{aliph}), 35.2 (C_{aliph}), 34.9 (C_{aliph}), 28.9 (C_{aliph}), 28.2 (C_{aliph}), 28.0 (C_{aliph}), 26.0 (C_{aliph}), 25.3 (C_{aliph}), 24.7 (C_{aliph}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 3271, 2924, 2017, 1890, 1750, 1691, 1526, 1490, 1420, 1384, 1334, 1262, 1228, 1050, 1023, 800, 767, 698, 626, 490$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{49}\text{H}_{47}\text{N}_8\text{O}_8\text{Re}_1\text{S}_1\text{Na}_1$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ berechnet: 1117.2688, gefunden: 1117.2692.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **99**



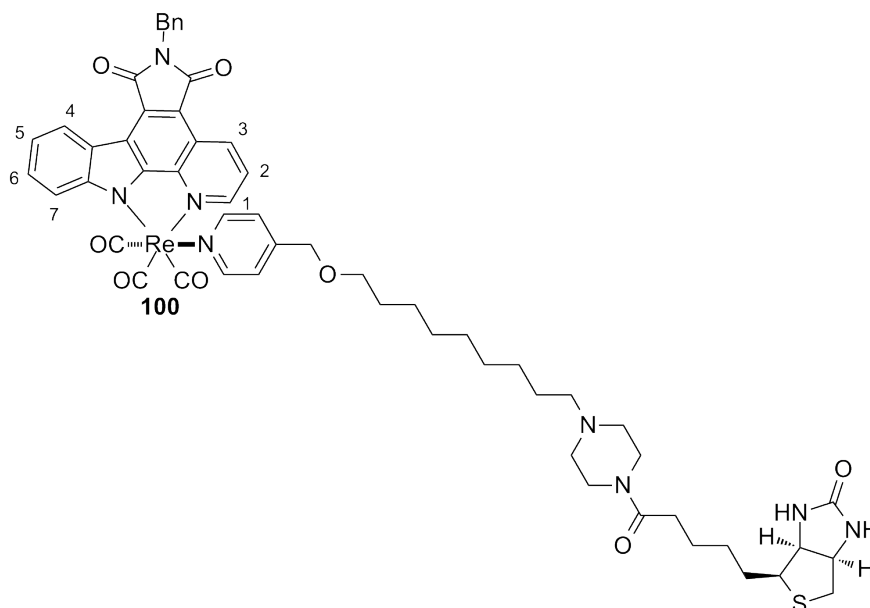
Zu einer Suspension des TBS-geschützten Pyridocarbazols **31** (33.3 mg, 82.9 μmol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (33.0 mg, 91.2 μmol) in Toluol (3.0 mL) wurde 4-Trifluormethylpyridin (10.6 μL , 91.2 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 20 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (3.0 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von TBAF (1 M in THF, 124 μL , 124 μmol) wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und fünf Minuten gerührt. Es wurde erneut auf 0 °C gekühlt und Essigsäure (7.10 μL , 124 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt, fünf Minuten gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der entstandene Rhenium(I)-Komplex wurde säulenchromatographisch (Dichlormethan) gereinigt.

Der Rückstand wurde in THF/Methanol (4:1, 10 mL) aufgenommen, Biotin-Ligand **98** (48.5 mg, 91.2 μmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch drei Stunden bei 60 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Dichlormethan/Methanol 10:1 \rightarrow Dichlormethan/Methanol 5:1) gereinigt. **99** wurde als roter Feststoff (41.3 mg, 45 %) erhalten.

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

DC: $R_f = 0.11$ (Dichlormethan/Methanol 10:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 9.73$ (s, 1H, N-H), 9.32 (dd, $J = 8.4, 1.1$ Hz, 1H, H-3), 9.23 (dd, $J = 5.0, 1.1$ Hz, 1H, H-1), 8.87 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-7), 8.13–8.10 (m, 3H, $\text{H}_{\text{Pyridin}}$, H-5), 7.71–7.66 (m, 2H, H-2, H-4), 7.42 (ddd, $J = 7.9, 7.1, 0.7$ Hz, 1H, H-6), 6.94 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H, $\text{H}_{\text{Pyridin}}$), 6.31 (s, 1H, N- H_{Biotin}), 5.82 (s, 1H, N- H_{Biotin}), 4.54–4.50 (m, 1H, NCH Biotin), 4.36–4.32 (m, 1H, NCH Biotin), 4.22 (s, 2H, H_{Benzyl}), 3.66–3.60 (m, 2H, $-\text{CH}_2$, Piperazin), 3.52–3.47 (m, 2H, $-\text{CH}_2$, Piperazin), 3.29 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, $-\text{OCH}_2-$), 3.21–3.15 (m, 1H, SCH), 2.91 (dd, $J = 12.9, 4.9$ Hz, 1H, SCH), 2.76 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H, SCH), 2.42–2.28 (m, 6H, $-\text{CH}_2$), 1.81–1.63 (m, 4H, $-\text{CH}_2$), 1.47–1.43 (m, 6H, $-\text{CH}_2$), 1.21–1.10 (m, 12H, $-\text{CH}_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 198.0$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 197.2 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 192.9 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 171.6 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 170.9 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 170.2 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 164.1 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 154.6 (C_{arom}), 151.8 (C_{arom}), 151.7 (C_{arom}), 151.6 (C_{arom}), 150.2 (C_{arom}), 142.4 (C_{arom}), 136.4 (C_{arom}), 131.6 (C_{arom}), 127.6 (C_{arom}), 125.1 (C_{arom}), 124.2 (C_{arom}), 123.5 (C_{arom}), 123.3 (C_{arom}), 121.9 (C_{arom}), 120.8 (C_{arom}), 116.9 (C_{arom}), 116.0 (C_{arom}), 113.9 (C_{arom}), 71.6 (C_{aliph}), 70.0 (C_{aliph}), 62.0 (C_{aliph}), 60.4 (C_{aliph}), 58.5 (C_{aliph}), 55.6 (C_{aliph}), 53.4 (C_{aliph}), 52.8 (C_{aliph}), 45.5 (C_{aliph}), 41.4 (C_{aliph}), 40.7 (C_{aliph}), 32.8 (C_{aliph}), 29.5 (C_{aliph}), 29.34 (C_{aliph}), 29.31 (C_{aliph}), 28.5 (C_{aliph}), 28.4 (C_{aliph}), 27.4 (C_{aliph}), 26.4 (C_{aliph}), 26.1 (C_{aliph}), 25.2 (C_{aliph}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 2926, 2855, 2018, 1892, 1751, 1699, 1621, 1420, 1341, 1266, 1230, 1128, 804, 737, 706, 639, 490$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{49}\text{H}_{56}\text{N}_8\text{O}_8\text{Re}_1\text{S}_1$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ berechnet: 1103.3495, gefunden: 1103.3473.

Darstellung des Rhenium(I)-Komplexes **100**



Zu einer Suspension des Benzyl-geschützten Pyridocarbazols **80** (13.5 mg, 35.7 μmol) und von $\text{ReCl}(\text{CO})_5$ (14.2 mg, 39.3 μmol) in Toluol (1.5 mL) wurde 4-Trifluormethylpyridin (4.6 μL , 39.3 μmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und 19 Stunden bei dieser Temperatur gerührt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot beobachtet werden konnte. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der entstandene Rhenium(I)-Komplex wurde säulenchromatographisch (Dichlormethan) gereinigt.

Der Rückstand wurde in THF/Methanol (4:1, 5.0 mL) aufgenommen, Biotin-Ligand **98** (21.0 mg, 39.3 μmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch zwei Stunden bei 60 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Dichlormethan/Methanol 10:1) gereinigt. **100** wurde als roter Feststoff (21.0 mg, 50 %) erhalten.

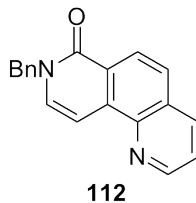
DC: $R_f = 0.28$ (Dichlormethan/Methanol 10:1). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 9.36$ (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H-3), 9.23 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, H-1), 8.93 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H-7), 8.13–8.10 (m, 3H, $\text{H}_{\text{Pyridin}}$, H-5), 7.73–7.66 (m, 2H, H-2, H-4), 7.50–7.43 (m, 3H, H-6, H_{arom}), 7.32–7.21 (m, 3H, H_{arom}), 6.93 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H, $\text{H}_{\text{Pyridin}}$), 5.84 (s, 1H, N- H_{Biotin}), 5.21 (s, 1H, N- H_{Biotin}), 4.93 (s, 2H, H_{Benzyl}), 4.52–4.48 (m, 1H, NC H_{Biotin}),

5.4. Darstellung der Rhenium(I)-Komplexe

4.33–4.29 (m, 1H, $\text{NCH}_{\text{Biotin}}$), 4.23 (s, 2H, H_{Benzyl}), 3.70–3.60 (m, 2H, $-\text{CH}_2$, Piperazin), 3.56–3.48 (m, 2H, $-\text{CH}_2$, Piperazin), 3.32 (t, $J = 6.5 \text{ Hz}$, 2H, $-\text{OCH}_2$), 3.20–3.13 (m, 1H, SCH), 2.90 (dd, $J = 12.9, 4.8 \text{ Hz}$, 1H, SCH), 2.74 (d, $J = 12.7 \text{ Hz}$, 1H, SCH), 2.45–2.36 (m, 8H, $-\text{CH}_2$), 1.80–1.65 (m, 4H, $-\text{CH}_2$), 1.48–1.46 (m, 6H, $-\text{CH}_2$), 1.22–1.13 (m, 10H, $-\text{CH}_2$). **^{13}C -NMR** (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 198.1$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 197.2 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 192.8 ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Re}}$), 171.5 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 169.9 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 169.2 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 163.5 ($\text{C}_{\text{Carbonyl}}$), 151.8 (C_{arom}), 151.7 (C_{arom}), 150.0 (C_{arom}), 142.3 (C_{arom}), 137.2 (C_{arom}), 136.3 (C_{arom}), 130.9 (C_{arom}), 128.8 (C_{arom}), 128.6 (C_{arom}), 127.75 (C_{arom}), 127.68 (C_{arom}), 125.2 (C_{arom}), 124.2 (C_{arom}), 123.5 (C_{arom}), 123.3 (C_{arom}), 121.9 (C_{arom}), 120.9 (C_{arom}), 117.2 (C_{arom}), 116.1 (C_{arom}), 113.0 (C_{arom}), 71.7 (C_{aliph}), 70.0 (C_{aliph}), 62.0 (C_{aliph}), 60.3 (C_{aliph}), 58.6 (C_{aliph}), 55.5 (C_{aliph}), 53.5 (C_{aliph}), 52.8 (C_{aliph}), 41.6 (C_{aliph}), 40.7 (C_{aliph}), 32.7 (C_{aliph}), 29.6 (C_{aliph}), 29.5 (C_{aliph}), 29.4 (C_{aliph}), 28.4 (C_{aliph}), 27.5 (C_{aliph}), 26.1 (C_{aliph}), 25.2 (C_{aliph}). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 2928, 2856, 2019, 1899, 1751, 1697, 1623, 1525, 1426, 1386, 1338, 1268, 1231, 1106, 1030, 807, 744, 701, 629, 494$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{56}\text{H}_{62}\text{N}_8\text{O}_8\text{Re}_1\text{S}_1$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ berechnet: 1193.3965, gefunden: 1193.3950; $\text{C}_{56}\text{H}_{61}\text{N}_8\text{O}_8\text{Re}_1\text{S}_1\text{Na}_1$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ berechnet: 1215.3785, gefunden: 1215.3788.

5.5. Darstellung der Ruthenium(II)-Komplexe

Darstellung des Phenanthrolin-Liganden **112**

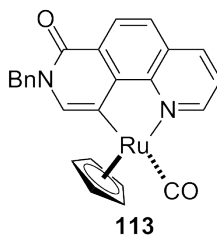


Eine Suspension von 1,8-Phenanthrolin-7(8*H*)-on (**109**, 100 mg, 510 μmol) in DMF (2.0 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und mit Natriumhydrid (60 % Mineralöldispersion, 25.2 mg, 612 μmol) versetzt. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch 30 Minuten gerührt. Im Anschluss wurde Benzylbromid (73.0 μL , 612 μmol) zugegeben und erst vier Stunden bei 60 °C sowie anschließend 16 Stunden bei 80 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 3:1) gereinigt. **112** wurde als weißer Feststoff (142 mg, 98 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.17$ (Hexan/Ethylacetat 2:1). **$^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 9.01$ (dd, $J = 4.3, 1.8$ Hz, 1H, H-2), 8.50 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H-6), 8.23 (dd, $J = 8.2, 1.7$ Hz, 1H, H-4), 7.89 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-10), 7.81 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, H-5), 7.58 (dd, $J = 8.2, 4.2$ Hz, 1H, H-3), 7.42 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-9), 7.38–7.28 (m, 5H, H_{arom}), 5.33 (s, 2H, $-\text{CH}_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 162.2$ (C-7), 149.8 (C-2), 137.4 (C_{arom}), 136.8 (C-4), 136.4 (C_{arom}), 133.2 (C-9), 129.8 (C_{arom}), 129.0 (C_{Benzyl}), 128.2 (C_{Benzyl}), 128.1 (C_{Benzyl}), 126.2 (C_{arom}), 126.1 (C-5), 125.1 (C-6), 123.4 (C-3), 102.6 (C-10), 52.4 ($-\text{CH}_2$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 1648, 1615, 1593, 1364, 1175, 842, 752, 699$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_1\text{Na}_1$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$ berechnet: 309.0998, gefunden: 309.0997.

5.5. Darstellung der Ruthenium(II)-Komplexe

Darstellung des Ruthenium(II)-Komplexes **113**



Zu einer Lösung von 8-Benzyl-1,8-phenanthrolin-7(8*H*)-on (**112**, 10.0 mg, 35.2 μmol) in DMF (1.0 mL) wurden Triethylamin (5.8 μL , 42.1 μmol) und der Ruthenium-Vorläufer $[\text{Ru}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)(\text{CO})(\text{MeCN})_2]\text{PF}_6$ (**110**, 24.1 mg, 101 μmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde 20 Stunden bei 70 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (Hexan/Ethylacetat 1:1 \rightarrow Ethylacetat) gereinigt. **113** wurde als gelber Feststoff (10.1 mg, 57 %) erhalten.

DC: $R_f = 0.63$ (Ethylacetat). **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CD_3CN): $\delta = 9.19$ (dd, $J = 5.1, 1.3$ Hz, 1H, H-2), 8.36 (dd, $J = 8.2, 1.3$ Hz, 1H, H-4), 8.26 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H-6), 7.71 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H-5), 7.48 (dd, $J = 8.3, 5.1$ Hz, 1H, H-3), 7.41–7.27 (m, 6H, H-9, H_{arom}), 5.39 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H, $-\text{CH}_2$), 5.23 (d, $J = 14.6$ Hz, 1H, $-\text{CH}_2$), 5.08 (s, 5H, C_5H_5). **$^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, CD_3CN): $\delta = 206.0$ ($\text{C}_{\text{Carbonyl-Ru}}$), 161.6 (C-7), 158.8 (C_{arom}), 155.4 (C_{arom}), 151.9 (C_{arom}), 139.6 (C_{arom}), 139.2 (C_{arom}), 137.3 (C_{arom}), 131.2 (C_{arom}), 129.6 (C_{arom}), 128.9 (C_{arom}), 128.8 (C_{arom}), 128.4 (C_{arom}), 126.8 (C_{arom}), 126.6 (C_{arom}), 124.5 (C_{arom}), 124.2 (C_{arom}), 84.3 (C_5H_5), 52.7 ($-\text{CH}_2$). **FT-IR** (Film): $\tilde{\nu} = 1909, 1625, 1553, 1413, 1174, 835, 748, 707, 560, 526$. **HRMS** (ESI^+): $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2\text{Ru}_1$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ berechnet: 481.0491, gefunden: 481.0488.

5.6. Weiterführende Untersuchungen

5.6.1. Messung der Absorptionsspektren

Die Absorptionsspektren der einzelnen Verbindungen wurden bei einer Konzentration von $60\text{ }\mu\text{M}$ in DMSO an einem DU[®] 800 Spektrophotometer (BECKMAN COULTER) in einer 1 mL-Quarzküvette im Bereich zwischen 200–800 nm gemessen.

5.6.2. Stabilitätsmessungen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei unterschiedliche Arten von Stabilitätsmessungen durchgeführt. Zum einen wurde die Stabilität der Verbindungen unter Belichtung untersucht. Dafür wurde die jeweilige Verbindung in DMSO- d_6 (Endkonzentration: 5 mM) gelöst und für eine bestimmte Zeitspanne mit einem LED Reflektor (Megaman[®], PAR16 GU10 LR0707-SP) bestrahlt. Durch die Aufnahme von ^1H -NMR-Spektren vor und nach Belichtung konnte anhand der evtl. auftretenden Signaländerungen die Stabilität unter Belichtung bestimmt werden.

Zum anderen wurde die Stabilität einzelner Metallkomplexe unter physiologischen Bedingungen untersucht. Dafür wurde die jeweilige Verbindung in DMSO- d_6 /D₂O (9:1, Endkonzentration: 5 mM) gelöst und 2-Mercaptoethanol (1.0 eq) zugegeben. Durch die Aufnahme von ^1H -NMR-Spektren nach bestimmten Zeitspannen konnte anhand der evtl. auftretenden Signaländerungen die Stabilität über einen längeren Zeitraum bestimmt werden.

5.6.3. Singulett-Sauerstoff Messungen

Für die Bestimmung der Singulett-Sauerstoff-Produktion verschiedener Verbindungen wurde eine Methode verwendet, die auf den Arbeiten von KRALJIĆ und EL MOHSNI beruht.^[115] *Para*-Nitrosodimethylanilin (RNO, $500\text{ }\mu\text{M}$) und Imidazol (80 mM) wurden in PBS-Puffer gelöst. Die zu untersuchenden Verbindungen wurden als DMSO-Lösungen (1.0 mM) verwendet. RNO ($10\text{ }\mu\text{L}$), Imidazol ($10\text{ }\mu\text{L}$), die zu untersuchende Verbindung ($5.0\text{ }\mu\text{L}$) und ein Gemisch aus PBS-Puffer/DMSO ($75\text{ }\mu\text{L}$, 1:1.5) wurden in eine 96-Lochplatte pipettiert. Die Singulett-Sauerstoff-Produktion in Abhängigkeit von Licht wurde getestet, indem das Absorptionsmaximum von RNO bei 440 nm vor und nach Belichtung (die Belichtungsdauer ist bei den jeweiligen Ergebnissen angegeben)

5.6. Weiterführende Untersuchungen

gemessen wurde. Als Lichtquelle wurde entweder eine 200 W Hg/Xe Bogenlampe der Firma NEWPORT oder ein LED Reflektor (Megaman[®], PAR16 GU10 LR0707-SP) mit ausgewählten Filtern (NEWPORT) verwendet (ebenfalls angegeben bei den jeweiligen Ergebnissen). Als Kontrolle wurden die jeweiligen Verbindungen in der Dunkelheit gemessen. Die Singulett-Sauerstoff-Produktion ist hierbei als die negative Differenz der Absorption vor und nach Belichtung angegeben.

5.6.4. Zytotoxizitätsmessungen

Präparation der Zellen

Die Zytotoxizitätsmessungen wurden von ANJA LUDEWIG durchgeführt. Durch Kultivierung von HeLa Zellen in einer 96-Lochplatte wurden 9000–10000 Zellen pro Vertiefung erhalten. Nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden bei 37°C und 5 % CO₂ wurden unterschiedliche Konzentrationen der in DMSO gelösten Rhenium(I)-Verbindungen, die vorher mit Medium so verdünnt wurden, dass die DMSO-Konzentration für alle Messungen konstant 1 % betrug, zugegeben. Nach einer weiteren Stunde Inkubationszeit wurden die Zellen für eine bestimmte Zeitspanne entweder mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe der Firma NEWPORT oder einem LED Reflektor (Megaman[®], PAR16 GU10 LR0707-SP) belichtet. Zur Untersuchung der Wellenlängenabhängigkeit der Photozytotoxizität wurden ausgewählte Transmissionsfilter mit verschiedenen unteren Wellenlängenbegrenzungen der Firma NEWPORT verwendet. Nach Belichtung wurden die Zellen über Nacht im Inkubator gelagert und 24 Stunden nach Zugabe der einzelnen Verbindungen mittels MTT-Viabilitätsassay auf ihr Überleben getestet.

Zellviabilitätstest (MTT-Viabilitätsassay)

Für den MTT-Viabilitätsassay wurden 5.0 mg/mL MTT in PBS gelöst und mit Zellmedium verdünnt (1:11). Das mit den Rhenium(I)-Verbindungen versetzte Medium wurde mit 200 µL des MTT-Medium-Gemisches ausgetauscht und die Zellen für drei Stunden bei 37°C und 5 % CO₂ inkubiert. Im Anschluss wurden 155 µL der Lösung wieder entfernt und durch 90 µL DMSO ersetzt, um die erhaltenen Formazan-Kristalle zu lösen. Nach 10 Minuten Schütteln wurde die Absorption der einzelnen Vertiefungen bei 535 nm mit

einem SpectraMax M5 Mikroplatereader der Firma MOLECULAR DEVICES gemessen. Die Zellviabilität der behandelten Zellen wurde nach Abzug der Hintergrundabsorption von Zellmedium und MTT im Verhältnis zu unbehandelten Zellen berechnet.

5.6.5. Kinaseassays

Die IC_{50} -Werte der einzelnen Verbindungen wurden in einem Radioaktivitätsassay bestimmt, bei welchem die Aktivität der einzelnen Kinasen anhand des Phosphorylierungsgrades ihres Substrates mit $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{ATP}$ (PERKIN ELMER) gemessen wurde. Die Kinasen (Pim1, Pim2, DYRK1A) und ihre Substrate (P70 S6, Woodtide) wurden von den Firmen ANASPEC und MILLIPORE bezogen. Verschiedene Konzentrationen der Inhibitoren wurden hierbei für 30 Minuten bei Raumtemperatur zusammen mit der Kinase und dem jeweiligen Substrat im Reaktionspuffer inkubiert. Durch Zugabe von ATP ($10\text{ }\mu\text{M}$ für die Rhenium(I)-Verbindungen, $1.0\text{ }\mu\text{M}$ für die Ruthenium(II)-Verbindungen), wobei etwa $0.1\text{ }\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{ATP}$ enthalten waren, wurde die Phosphorylierungsreaktion gestartet. Nach einer weiteren Inkubationszeit von 30 Minuten wurde die Reaktion beendet, indem $25\text{ }\mu\text{L}$ (DYRK1A), bzw. $17.5\text{ }\mu\text{L}$ (Pim1, Pim2) der Reaktionslösung auf ein WHATMAN P81 Phosphocellulosepapier mit einem Durchmesser von 2.1 cm gegeben wurden. Dieses wurde im Anschluss dreimal mit 0.75 % Phosphorsäure und einmal mit Aceton gewaschen. Die getrockneten Papiere wurden in Szintillationsbehälter transferiert und mit 5 mL Szintillationsflüssigkeit versetzt. Die Anschläge pro Minute (CPM) wurden mit einem BECKMAN COULTER LS6500 Multi-Purpose Szintillationszähler detektiert. Der IC_{50} -Wert ist definiert als die Konzentration des Inhibitors, bei der die CPM auf einer sigmoidalen Ausgleichsfunktion 50 % der Kontrolle entsprechen (korrigiert um den natürlichen Strahlungshintergrund), was einer Restaktivität von 50 % der natürlichen Aktivität der Kinase gleichzusetzen ist.

DYRK1A Inhibierung: Nach Zugabe von ATP und $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{ATP}$ betrug das Gesamtvolumen $50\text{ }\mu\text{L}$, welches aus Tris-HCl (50 mM, pH 7.5), HEPES (0.5 mM, pH 7.4), $\text{Mg}(\text{OAc})_2$ (10 mM), DMSO (10 %), DYRK1A (2.2 nM), Woodtide ($50\text{ }\mu\text{M}$), EGTA (0.1 mM), Dithiothreitol (15 mM), Brij-35 (0.03 %), BSA (1.0 mg/mL) und ATP ($1.0\text{ }\mu\text{M}$), wobei etwa $0.1\text{ }\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{ATP}$ enthalten waren, bestand.

5.6. Weiterführende Untersuchungen

Pim1 und Pim2 Inhibierung: Nach Zugabe von ATP und $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{ATP}$ betrug das Gesamtvolumen $25\text{ }\mu\text{L}$, welches aus MOPS (10 mM, pH 7.0), $\text{Mg}(\text{OAc})_2$ (10 mM), DMSO (10 %), Pim1 (1.6 nM) oder Pim2 (15.8 nM), P70 S6 ($50\text{ }\mu\text{M}$), EDTA (0.1 mM), Brij-35 (0.001 %), Glycerin (0.5 %), 2-Mercaptoethanol (0.01 %), BSA (0.1 mg/mL) und ATP (10 bzw. $1.0\text{ }\mu\text{M}$), wobei etwa $0.1\text{ }\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{ATP}$ enthalten waren, bestand.

5.6.6. Proteinkristallisation

Die Co-Kristallisation des Ruthenium(II)-Komplexes **111** mit der Proteinkinase Pim1 wurde von KATJA KRÄLING nach einer modifizierten Methode durchgeführt.^[121,156] Die Kinasedomäne von Pim1 (Aminosäuren 33 bis 304) wurde in den pET-TOPO-Vektor mit einem *N*-terminalen His₆-Tag kloniert und in *E. coli* BL21(DE3)pLysS Zellen überexprimiert. Die Zellen wurden bei einer Temperatur von 37 °C bis zu einem OD₆₀₀-Wert von 0.6 in LB-Medium kultiviert, dann wurde die Genexpression durch Zugabe von IPTG (1 mM) initiiert und fünf Stunden bei einer Temperatur von 18 °C fortgeführt. Die Kultur wurde zentrifugiert (6000 Upm, 10–15 Minuten, RC 6 Plus, THERMO SCIENTIFIC SORVALL, Rotor F10S-6-500Y), das erhaltene Zellpellet in Resuspensionspuffer (50 mM HEPES, pH 7.5, 500 mM NaCl, 5 % Glycerin) aufgenommen und durch Ultraschall lysiert. Das Lysat wurde im Anschluss durch Zentrifugation (17000 Upm, 4 °C, RC 6 Plus, THERMO SCIENTIFIC SORVALL, Rotor F21-8-50) von Zelltrümmern abgetrennt und mittels DEAE Zellulosesäule (DE52 WHATMAN) und Ni-NTA-Affinitätssäule (Imidazol-Gradient, 20 mM bis zu 250 mM) chromatographisch gereinigt. Die Dephosphorylierung und Abspaltung des His₆-Tags erfolgte über Nacht durch λ -Protein-Phosphatase und TEV Protease. Die weitere Reinigung des Proteins geschah über eine Mono-Q Säule (Anionentauscher, GE Healthcare, 50 mM HEPES, pH 7.5 und einem 0–1 M NaCl-Salzgradient) und eine abschließende Größenausschlusschromatographie über Superdex200 Material (Hi Load 26/60, Superdex 200 prepgrade, GE Healthcare, 50 mM HEPES, pH 7.5, 300 mM). Das gereinigte Protein wurde mittels Zentrifugation aufkonzentriert (AMICON Ultra Konzentratoren, MILLIPORE, 10 kDa) und gegen Kristallisationspuffer (50 mM HEPES, pH 7.5, 250 mM NaCl, 5 mM DTT, 5 % Glycerin) in einer *Slide-A-Lyzer Dialysis* Kassette (THERMO SCIENTIFIC) dialysiert. Das Protein wurde anschließend auf

8.0 mg/mL aufkonzentriert und zur Kristallisation verwendet. Ruthenium(II)-Komplex **111** (Endkonzentration 1.0 mM) wurde zum Protein dazugegeben und für eine Stunde auf Eis inkubiert. Als Kristallisationsmethode wurde die *sitting drop*-Variante gewählt. Es wurden 2 μ L der inkubierten Pim1-Lösung mit 2 μ L Kristallisationspuffer (100 mM Bis-Tris-Propan, 200 mM Lithiumsulfat, 12 % PEG 3350, 10 % Ethylenglykol und 0.3 % DMSO, pH 7.0) vermischt und bei 4 °C inkubiert. Die finale Konzentration von **111** betrug 0.5 mM und 2.65 % DMSO. Nach drei Tagen konnten entstandene Kristalle aus der Bedingung gefischt, in einer Kryoschutz-Lösung (Kristallisationsbedingung mit zusätzlich 25 % Glycerin) gesoakt und in flüssigem Stickstoff schockgefroren werden.

Die erhaltenen Kristalle wurden von HOLGER STEUBER, jetziges Mitglied der BAYER PHARMA AG, mittels Röntgendiffraktometrie am Bessy II (Helmholtz-Zentrum Berlin, Deutschland), Beamline 14.1^[172] untersucht, die Kristallstruktur gelöst und verfeinert. Die erhaltenen Daten wurden mit dem Programm XDS^[173] integriert. Die Strukturlösung erfolgte unter Verwendung des Programms Phaser,^[174] Teil von Phenix,^[175] durch molekularen Ersatz mit der Proteinkette der Kinase-Domäne Pim1 (PDB Code 1XWS) als Suchmodell. Verfeinerungen des Modells erfolgten iterativ in dem Programm COOT^[176] und kristallographische Verfeinerungen mit dem Programm phenix.refine. Das finale Modell wurde mit dem Programm PROCHECK^[177] überprüft. Die Koordinaten der Co-Kristallstruktur können in der Proteindatenbank (PDB) unter dem PDB Code 3WE8 gefunden werden.

5.6.7. Lokalisationsexperimente

Die verschiedenen Lokalisationsexperimente der Rhenium(I)-Verbindungen **78** und **99** wurden von RAIMO HARTMANN aus der Arbeitsgruppe PARAK der Philipps-Universität Marburg durchgeführt.

Präparation der Zellen

Alle Reagenzien, soweit nicht anders angegeben, wurden käuflich von SIGMA-ALDRICH erworben. HeLa Zellen wurden in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), versetzt mit FBS (10 %, BIOCHROME, Deutschland), L-Glutamin (2 mM), Penicillin (100 U/mL)

5.6. Weiterführende Untersuchungen

und Streptomycin (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), kultiviert.

Für die Experimente wurden die Zellen auf 12mm Glas-Deckgläschen kultiviert (15000 Zellen/ cm^2). Für Untersuchungen zur Co-Lokalisierung mit frühen Endosomen bzw. Lysosomen wurden das GFP-gelabelte und mit den Lysosomen verbundene Protein 1 (LAMP1) und das RFP-gelabelte frühe endosomale Antigen 1 (EEAE1) in den HeLa Zellen exprimiert. Dazu wurden 12 Stunden nach Impfung CellLight Lysosomes-GFP BacMam 2.0 (6 μL) und CellLight Endosomes-RFP BacMam 2.0 (6.0 μL , LIFE TECHNOLOGIES) sowie 20 Viruspartikel für jedes CellLight Reagenz pro Zelle zugegeben. Um die Mitochondrien zu visualisieren, wurde die GFP-gelabelte E1-alpha Pyruvat-Dehydrogenase nach Impfung mit CellLight Mitochondria-GFP BacMam 2.0 Virus-Partikel (20 Partikel/Zelle) exprimiert. Die Komplexe wurden in DMSO gelöst, um eine 100 μM Lösung zu erhalten. 24 Stunden nach der Transfektion wurde das Zellmedium ausgetauscht, die Verbindungen (1 μM) zugegeben und ebenfalls 24 Stunden inkubiert.

Immunmarkierung

Die Zellen wurden in *para*-Formaldehyd (4%) 15 Minuten fixiert. Für die Analyse der Co-Lokalisierung mit der zellulären Plasmamembran wurden die Zellen mit Tetramethylrhodamin-gelabeltem *wheat germ agglutinin* (WGA-TMR, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in HBSS, LIFE TECHNOLOGIES) 20 Minuten angefärbt. Um die Biotin-markierten Komplexe zu detektieren, wurde eine Immunmarkierung durchgeführt. Dafür wurden die Zellen mit einer Lösung von Glycin (5mg/mL) und Saponin (5mg/ml) in PBS fünf Minuten behandelt und im Anschluss mit *Bovine Serum Albumin* (BSA, 20 mg/mL) in dieser Lösung 30 Minuten blockiert. Monoklonale anti-Biotin Maus-Antikörper (SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, #sc-57636) wurden in der Block-Lösung 1:200 verdünnt und eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Die Primär-Antikörper wurden durch DyLight649-gelabelte anti-Maus Antikörper (1.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, JACKSON IMMUNORESEARCH) eine Stunde detektiert. Zum Schluss wurde der Zellkern mit DAPI angefärbt und die Deckgläschen mit Fluoromount-G auf Objektträgern befestigt.

Konfokale Mikroskopie

Die Proben wurden durch konfokale Mikroskopie (LSM 510 META, ZEISS, Deutschland) untersucht. Für die Bildgebung wurde das Objektiv Apochromat 63x/1.40 Oil DIC M27 verwendet. GFP wurde mit einer Wellenlänge von 488 nm angeregt und die Emission zwischen 505 nm und 550 nm detektiert. RFP bzw. TMR wurden bei 543 nm angeregt und die Emission zwischen 560 nm und 615 nm aufgenommen. Die Fluoreszenz des Farbstoffes DyLight649 wurde durch Anregung bei 650 nm durch Benutzung eines LP 650 nm Filters detektiert. Für die Anregung von DAPI wurde ein UV-Laser verwendet und die Emission wurde zwischen 420 nm und 490 nm detektiert. Die Lochblende wurde so justiert, dass eine Dicke von 0.9 μm für jeden Objektträger erhalten wurde.

Literatur

- [1] Gesundheitsberichterstattung des Bundes, www.gbe-bund.de, [Letzter Zugriff 08.08.2013].
- [2] Krebstherapie, www.onmeda.de, [Letzter Zugriff 08.08.2013].
- [3] B. J. Druker, *The Oncologist* **2004**, *9*, 357–360.
- [4] D. E. J. G. J. Dolmans, D. Fukumura, R. K. Jain, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 380–387.
- [5] E. Crabb, E. Moore, *Metals and Life*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2010**.
- [6] K. Severin, R. Bergs, W. Beck, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1635–1654.
- [7] N. Metzler-Nolte, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1040–1043.
- [8] U. Schatzschneider, N. Metzler-Nolte, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1504–1507.
- [9] L. E. Scott, C. Orvig, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4885–4910.
- [10] Z. Guo, P. J. Sadler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1512–1531.
- [11] M. Gielen, E. R. T. Tiekink, *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents: The Use of Metals in Medicine*, John Wiley & Sons, Chichester, **2005**.
- [12] J. C. Bousquet, S. Saini, D. D. Stark, P. F. Hahn, M. Nigam, J. Witterberg, J. T. Ferrucci, *Radiology* **1988**, *166*, 693–698.
- [13] J. A. Peters, J. Huskens, D. J. Raber, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spec.* **1996**, *28*, 283–350.
- [14] S. M. Rocklage, W. P. Cacheris, S. C. Quay, F. E. Hahn, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **1989**, *28*, 477–485.
- [15] K. G. Toft, S. O. Hustvedt, D. Grant, G. A. Friisk, T. Skotland, *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **1997**, *22*, 65–72.

- [16] P. F. Sharp, F. W. Smith, H. G. Gemmell, D. Lyall, N. T. S. Evans, D. Gvozdanovic, J. Davidson, D. A. Tyrrell, R. D. Pickett, R. D. Neirinckx, *J. Nucl. Med.* **1986**, *27*, 171–177.
- [17] J. G. McAfee, G. Subramanian, G. Gagne, R. F. Schneider, C. Zapf-Longo, *Eur. J. Nucl. Med.* **1987**, *13*, 353–357.
- [18] K. H. Thompson, C. Orvig, *Science* **2003**, *300*, 936–939.
- [19] A. V. Klein, T. W. Hambley, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4911–4920.
- [20] F. Coste, J.-M. Malinge, L. Serre, W. Shepard, M. Roth, M. Leng, C. Zelwer, *Nucl. Acids Res.* **1999**, *27*, 1837–1846.
- [21] J. Reedijk, *Chem. Commun.* **1996**, 801–806.
- [22] D. Yang, A. H.-J. Wang, *Prog. Biophys Mol. Biol.* **1996**, *66*, 81–111.
- [23] G. Momekov, D. Momekova, *Expert Opin. Ther. Patents* **2006**, *16*, 1383–1403.
- [24] M. T. Kuo, H. H. W. Chen, I.-S. Song, N. Savaraj, T. Ishikawa, *Cancer Metastasis Rev.* **2007**, *26*, 71–83.
- [25] B. Wessels, R. D. Rogus, *Med. Phys.* **1984**, *11*, 638–675.
- [26] J. R. Dilworth, S. J. Parrott, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 43–55.
- [27] H. B. Breitz, P. L. Weiden, J.-L. Vanderheyden, J. W. Appelbaum, M. J. Bjorn, M. F. Fer, S. B. Wolf, B. A. Ratliff, C. A. Seiler, D. C. Foisie, D. R. Fisher, R. W. Schroff, A. R. Fritzberg, P. G. Abrams, *J. Nucl. Med.* **1992**, *33*, 1099–1109.
- [28] K. Ogawa, T. Mukai, D. Asano, H. Kawashima, S. Kinuya, K. Shiba, K. Hashimoto, H. Mori, H. Saji, *J. Nucl. Med.* **2007**, *48*, 122–127.
- [29] K. K.-W. Lo, M.-W. Louie, K.-S. Sze, J. S.-Y. Lau, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 602–611.
- [30] T. Boenisch, *Handbuch Immunchemische Färbemethoden*, DakoCytomation GmbH, Hamburg, **2003**.

Literatur

- [31] A. Bergamo, C. Gaiddon, J. H. M. Schellens, J. H. Beijnen, G. Sava, *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *106*, 90–99.
- [32] M. Groessl, O. Zava, P. J. Dyson, *Metallomics* **2011**, *3*, 591–599.
- [33] P. Heffeter, K. Böck, B. Atil, M. A. R. Hoda, W. Körner, C. Bartel, U. Jungwirth, B. K. Keppler, M. Micksche, W. Berger, G. Koellensperger, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2010**, *15*, 737–748.
- [34] S. K. Stevens, A. P. Strehle, R. L. Miller, S. H. Gammons, K. J. Hoffman, J. T. McCarty, M. E. Miller, L. K. Stultz, P. K. Hanson, *Mol. Pharmacol.* **2013**, *83*, 225–234.
- [35] E. Meggers, *Chem. Commun.* **2009**, 1001–1010.
- [36] E. Meggers, G. E. Atilla-Gokcumen, H. Bregman, J. Maksimoska, S. P. Mulcahy, N. Pagano, D. S. Williams, *Synlett* **2007**, *8*, 1177–1189.
- [37] C. Lipinski, A. Hopkins, *Nature* **2004**, *432*, 855–861.
- [38] C. M. Dobson, *Nature* **2004**, *432*, 824–828.
- [39] M. D. Burke, S. L. Schreiber, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 46–58.
- [40] R. Ackroyd, C. Kelty, N. Brown, M. Reed, *Photochem. Photobiol.* **2001**, *74*, 656–669.
- [41] J. P. Celli, B. Q. Spring, I. Rizvi, C. L. Evans, K. S. Samkoe, S. Verma, B. W. Pogue, T. Hasan, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2795–2838.
- [42] D. Bauer, *Partialsynthese maßgeschneiderter Photosensibilisatoren vom Chlorintyp und Studien zur pharmazeutischen Anwendung in der Photodynamischen Therapie*, Dissertation, **2006**.
- [43] J. Moan, K. Berg, *Photochem. Photobiol.* **1991**, *53*, 549–553.
- [44] A. Juarranz, P. Jaén, F. Sanz-Rodríguez, J. Cuevas, S. González, *Clin. Transl. Oncol.* **2008**, *10*, 148–154.

- [45] Z. Zarebska, E. Waszkowska, S. Caffieri, F. Dall’Acqua, *Il Farmaco* **2000**, *55*, 515–520.
- [46] J. Regensburger, *Spektroskopische Untersuchungen zur Singulett-Sauerstoff-Lumineszenz in Biomolekülen, Bakterien und Zellen*, Dissertation, **März 2010**.
- [47] K. Szacilowski, W. Macyk, A. Drzewiecka-Matuszek, M. Brindell, G. Stochel, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2647–2694.
- [48] A. E. O’Connor, W. M. Gallagher, A. T. Byrne, *Photochem. Photobiol.* **2009**, *85*, 1053–1074.
- [49] R. Bonnett, *Chem. Soc. Rev.* **1995**, *24*, 19–33.
- [50] D. Kessel, Y. Luo, Y. Deng, C. K. Chang, *Photochem. Photobiol.* **1997**, *65*, 422–426.
- [51] R. W. Boyle, D. Dolphin, *Photochem. Photobiol.* **1996**, *64*, 469–485.
- [52] K. Berg, J. Moan, *Photochem. Photobiol.* **1997**, *65*, 403–409.
- [53] D. J. Ball, Y. Luo, D. Kessel, J. Griffiths, S. B. Brown, D. I. Vernon, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **1998**, *42*, 159–163.
- [54] E. Buytaert, M. Dewaele, P. Agostinis, *Biochim. Biophys. Acta* **2007**, *1776*, 86–107.
- [55] N. L. Oleinick, R. L. Morris, I. Belichenko, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, *1*, 1–21.
- [56] M. Ethirajan, Y. Chen, P. Joshi, R. K. Pandey, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 340–362.
- [57] M. O. Senge, J. C. Brandt, *Photochem. Photobiol.* **2011**, *87*, 1240–1296.
- [58] K. Ishii, *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 1556–1568.
- [59] T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korblik, J. Moan, Q. Peng, *J. Natl. Cancer Inst.* **1975**, *55*, 115–121.
- [60] T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korblik, J. Moan, Q. Peng, *JNCI Cancer Spectrum* **1998**, *90*, 889–905.

Literatur

- [61] T. J. Dougherty, J. E. Kaufman, A. Goldfarb, K. R. Weishaupt, D. Boyle, A. Mittelman, *Cancer Res.* **1978**, *38*, 2628–2635.
- [62] T. J. Dougherty, W. R. Potter, K. R. Weishaupt, *Prog. Clin. Biol. Res.* **1984**, *170*, 301–314.
- [63] A. Orenstein, G. Kostenich, L. Roitman, Y. Shechtman, Y. Kopolovic, B. Ehrenberg, Z. Malik, *Br. J. Cancer* **1996**, *73*, 937–944.
- [64] C. H. Sibata, V. C. Colussi, N. L. Oleinick, T. J. Kinsella, *Expert Opin. Pharmacother.* **2001**, *2*, 917–927.
- [65] H.-B. Ris, H. J. Altermatt, R. Inderbitzi, R. Hess, B. Nachbur, J. C. M. Stewart, Q. Wang, C. K. Lim, R. Bonnett, M. C. Berenbaum, U. Althaus, *Br. J. Cancer* **1991**, *64*, 1116–1120.
- [66] M. O. Senge, *Photodiagn. Photodyn.* **2012**, *9*, 170–179.
- [67] B. Krammer, K. Plaetzer, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2008**, *7*, 283–289.
- [68] R. A. Mittra, L. J. Singerman, *Optom. Vis. Sci.* **2002**, *79*, 218–224.
- [69] D. S. Rassmussen-Taxdal, G. E. Ward, F. H. J. Figge, *Cancer* **1955**, *8*, 78–81.
- [70] M. R. Hamblin, J. L. Miller, T. Hasan, *Cancer Res.* **1996**, *56*, 5205–5210.
- [71] K. Masui, B. Gini, J. Wykosky, C. Zanca, P. S. Mischel, F. B. Furnari, W. K. Cavenee, *Carcinogenesis* **2013**, *34*, 725–738.
- [72] T. Hunter, *Cell* **1987**, *50*, 823–829.
- [73] J. C. Venter, et al., *Science* **2001**, *291*, 1304–1351.
- [74] E. S. Lander, L. M. Linton, B. Birren, *Nature* **2001**, *409*, 860–921.
- [75] G. M. Rubin, *Science* **2000**, *287*, 2204–2215.
- [76] G. Manning, G. D. Plowman, T. Hunter, S. Sudarsanam, *Trends Biochem. Sci.* **2002**, *27*, 514–520.

- [77] D. Hanahan, R. A. Weinberg, *Cell* **2000**, *100*, 57–70.
- [78] G. Klebe, *Wirkstoffdesign*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2009**.
- [79] G. Manning, D. B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, S. Sudarsanam, *Science* **2002**, *298*, 1912–1934.
- [80] E. H. Fischer, E. G. Krebs, *J. Biol. Chem.* **1955**, *216*, 121–132.
- [81] Q. Liu, Y. Sabnis, Z. Zhao, T. Zhang, S. J. Buhrlage, L. H. Jones, N. S. Gray, *Chem. Biol.* **2013**, *20*, 146–159.
- [82] A. K. Ghose, T. Herbertz, D. A. Pippin, J. M. Salvino, J. P. Mallamo, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5149–5171.
- [83] J. J. L. Liao, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 409–424.
- [84] P. W. Schenk, B. E. Snaar-Jagalska, *Biochem. Biophys. Acta* **1999**, *1449*, 1–24.
- [85] A. Vulpetti, R. Bosotti, *Il Farmaco* **2004**, *59*, 759–765.
- [86] A. C. Bishop, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 587–589.
- [87] M. S. Cohen, C. Zhang, K. M. Shokat, J. Taunton, *Science* **2005**, *308*, 1318–1321.
- [88] D. Drygin, M. Haddach, F. Pierre, D. M. Ryckman, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 8199–8208.
- [89] D. Wang, F. Wang, Y. Tan, L. Dong, L. Chen, W. Zhu, H. Wang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *22*, 168–171.
- [90] J. Villanueva, A. Vultur, M. Herlyn, *Cancer Res.* **2011**, *71*, 7137–7140.
- [91] S. Gysin, M. Salt, A. Young, F. McCormick, *Genes & Cancer* **2011**, *2*, 359–372.
- [92] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemie*, Elsevier GmbH, München, **2007**.
- [93] T. Hunter, *J. Clin. Invest.* **2007**, *117*, 2036–2043.
- [94] M. Deininger, E. Buchdunger, B. J. Druker, *Blood* **2005**, *105*, 2640–2653.

Literatur

- [95] M. W. Karaman, S. Herrgard, D. K. Treiber, P. Gallant, C. E. Atteridge, B. T. Campbell, K. W. Chan, P. Ciceri, M. I. Davis, P. T. Edeen, R. Faraoni, M. Floyd, J. P. Hunt, D. J. Lockhart, Z. V. Milanov, M. J. Morrison, G. Pallares, H. K. Patel, S. Pritchard, L. M. Wodicka, P. P. Zarrinkar, *Nat. Biotechnol.* **2008**, *26*, 127–132.
- [96] P. A. Clemons, N. E. Bodycombe, H. A. Carrinski, J. A. Wilson, A. F. Shamji, B. K. Wagner, A. N. Koehler, S. L. Schreiber, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107*, 18787–18792.
- [97] H. Bregman, E. Meggers, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5465–5468.
- [98] D. S. Williams, P. J. Carroll, E. Meggers, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 2944–2946.
- [99] J. Maksimoska, D. S. Williams, G. E. Atilla-Gokcumen, K. S. M. Smalley, P. J. Carroll, R. D. Webster, P. Filippakopoulos, S. Knapp, M. Herlyn, E. Meggers, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 4816–4822.
- [100] A. Wilbuer, D. H. Vlecken, D. J. Schmitz, K. Kräling, K. Harms, C. P. Bagowski, E. Meggers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3839–3842.
- [101] C. Streu, L. Feng, P. J. Carroll, J. Maksimoska, R. Marmorstein, E. Meggers, *Inorg. Chim. Acta* **2011**, *377*, 34–41.
- [102] S. Dieckmann, R. Riedel, K. Harms, E. Meggers, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 813–821.
- [103] L. Feng, Y. Geisselbrecht, S. Blanck, A. Wilbuer, G. E. Atilla-Gokcumen, P. Filippakopoulos, K. Kräling, M. A. Celik, K. Harms, J. Maksimoska, R. Marmorstein, G. Frenking, S. Knapp, L.-O. Essen, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 5976–5986.
- [104] S. Blanck, J. Maksimoska, J. Baumeister, K. Harms, R. Marmorstein, E. Meggers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 5244–5246.
- [105] G. E. Atilla-Gokcumen, L. DiConstanzo, E. Meggers, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2011**, *16*, 45–50.

- [106] S. Dieckmann, *Neue Metallkomplexe mit interessanten biologischen Eigenschaften*, Dissertation, **März 2012**.
- [107] A. Wilbuer, *Entwicklung eines bifunktionalen Wirkstoffs: Antiangiogenese trifft Photozytotoxizität*, Dissertation, **2012**.
- [108] H. Bregman, D. S. Williams, E. Meggers, *Synthesis* **2005**, *9*, 1521–1527.
- [109] N. Pagano, J. Maksimoska, H. Bregman, D. S. Williams, R. D. Webster, F. Xue, E. Meggers, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1218–1227.
- [110] K. K.-W. Lo, M.-W. Louie, K. Y. Zhang, *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 2603–2622.
- [111] K. K.-W. Lo, K. Y. Zhang, S. P.-Y. Li, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2011**, 3551–3568.
- [112] A. Ludewig, *Metallkomplexe mit dualer Funktionalität: Eine Studie über die zelluläre Wirkungsweise photozytotoxischer Kinaseinhibitoren*, Dissertation, **Januar 2014**.
- [113] B. S. Berlett, E. R. Stadtman, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 20313–20316.
- [114] I. Kraljić, C. N. Trumbore, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 2547–2550.
- [115] I. Kraljić, S. El Mohsni, *Photochem. Photobiol.* **1978**, *28*, 577–581.
- [116] J. H. Baxendale, A. A. Khan, *Int. J. Radiat. Phys. Chem.* **1969**, *1*, 11–24.
- [117] J. Muff, L. R. Bennedsen, E. G. Søgaaard, *J. Appl. Electrochem.* **2011**, *41*, 599–607.
- [118] T. Völker, *Synthese bekannter Rhenium-Pyridocarbazol-Komplexe sowie die Untersuchung ihrer photodynamischen Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies*, Vertiefungsbericht, **WS 2011/2012**.
- [119] R. D. Hall, C. F. Chignell, *Photochem. Photobiol.* **2008**, *45*, 459–464.
- [120] E. Riedel, *Moderne Anorganische Chemie, 2. Auflage*, deGruyter, Berlin, **2003**.
- [121] J. E. Debreczeni, A. N. Bullock, G. E. Atilla, D. S. Williams, H. Bregman, S. Knapp, E. Meggers, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1580–1585.
- [122] K. K.-W. Lo, K. H.-K. Tsang, N. Zhu, *Organometallics* **2006**, *25*, 3220–3227.

Literatur

- [123] J. L. Henderson, S. L. Buchwald, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4442–4445.
- [124] M. R. Biscoe, B. P. Fors, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6686–6687.
- [125] B. P. Fors, D. A. Watson, M. R. Biscoe, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13552–13554.
- [126] T. Yoshida, M. Nishiyachi, N. Nakashima, M. Murase, E. Kotani, *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, *50*, 872–876.
- [127] T. Yoshida, M. Nishiyachi, N. Nakashima, M. Murase, E. Kotani, *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 209–214.
- [128] P. Szabo, *Darstellung von Rhenium(I)-Komplexen mit photocytotoxischen Eigenschaften*, Bachelorarbeit, **Januar 2013**.
- [129] J. Chaudiere, R. Ferrari-Iliou, *Food Chem. Toxicol.* **1999**, *37*, 949–962.
- [130] M. Valko, C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, M. Mazur, *Chem. Biol. Interact.* **2006**, *160*, 1–40.
- [131] G. R. Buettner, *Arch. Biochem. Biophys.* **1993**, *300*, 535–543.
- [132] M. O. Hengartner, *Nature* **2000**, *407*, 770–776.
- [133] M. G. Traber, J. F. Stevens, *Free Radic. Biol. Med.* **2011**, *51*, 1000–1013.
- [134] P. Agostinis, E. Buytaert, H. Breyssens, N. Hendrickx, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2004**, *3*, 721–729.
- [135] A. C. E. Moor, *J. Photochem. Photobiol. B* **2000**, *57*, 1–13.
- [136] D. J. Granville, C. M. Carthy, H. Jiang, G. C. Shore, B. M. McManus, D. W. C. Hunt, *FEBS Lett.* **1998**, *437*, 5–10.
- [137] V. Viswanath, Y. Wu, R. Boonplueang, S. Chen, F. F. Stevenson, F. Yantiri, L. Yang, M. F. Beal, J. K. Andersen, *J. Neurosci.* **2001**, *21*, 9519–9528.

- [138] T. Wieder, F. Essman, A. Prokop, K. Schmelz, K. Schulze-Osthoff, R. Beyaert, B. Dorken, P. T. Daniel, *Blood* **2001**, *97*, 1378–1387.
- [139] M. Lam, N. L. Oleinick, A. L. Nieminen, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 47379–47386.
- [140] S. M. Chiu, N. L. Oleinick, *Br. J. Cancer* **2001**, *84*, 1099–1106.
- [141] D. Kessel, Y. Luo, P. Mathieu, J. J. Reiners, *Photochem. Photobiol.* **2000**, *71*, 196–200.
- [142] R. Ishisaka, T. Utsumi, M. Yabuki, T. Kanno, T. Furuno, M. Inoue, K. Utsumi, *FEBS Lett.* **1998**, *435*, 233–236.
- [143] J. J. Reiners, J. A. Caruso, P. Mathieu, B. Chelladurai, X.-M. Yin, D. Kessel, *Cell Death Differ.* **2002**, *9*, 934–944.
- [144] K. K.-W. Lo, W.-K. Hui, *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 1992–2002.
- [145] T.-P. Wang, Y.-J. Chiou, Y. Chen, E.-C. Wang, L.-C. Hwang, B.-H. Chen, Y.-H. Chen, C.-H. Ko, *Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 1642–1655.
- [146] M.-J. Li, W.-M. Kwok, W. H. Lam, C.-H. Tao, V. W.-W. Yam, D. L. Phillips, *Organometallics* **2009**, *28*, 1620–1630.
- [147] W. Yu, T. Gill, L. Wang, Y. Du, H. Ye, X. Qu, J. T. Guo, A. Cuconati, K. Zhao, T. M. Block, X. Xu, J. Chang, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 6061–6075.
- [148] C. Corona, B. K. Bryant, J. B. Arterburn, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1883–1886.
- [149] M. Thompson, S. Sheikh, J. C.-C. Sheng, C. Blaszykowski, *Avoidance of non-specific binding on an acoustic wave biosensor using linker and diluent molecules for device surface modification*, US 2011/0306771 A1, United States, **Dec. 15, 2011**.
- [150] F. Havas, N. Leygue, M. Danel, B. Mestre, C. Galaup, C. Picard, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 7673–7686.
- [151] H. Sleiman, B. Chen, *Polymer compositions and uses thereof*, WO 2006/130955 A1, World Intellectual Property Organization, **Dec. 14, 2006**.

Literatur

- [152] M. A. Fabian, W. H. Biggs, D. K. Treiber, C. E. Atteridge, M. D. Azimioara, M. G. Benedetti, T. A. Carter, P. Ciceri, P. T. Edeen, M. Floyd, J. M. Ford, M. Galvin, J. L. Gerlach, R. M. Grotzfeld, S. Herrgard, D. E. Insko, M. A. Insko, A. G. Lai, J. M. Lelias, S. A. Mehta, Z. V. Milanov, A. M. Velasco, L. M. Wodicka, H. K. Patel, P. P. Zarrinkar, D. J. Lockhart, *Nat. Biotechnol.* **2005**, *23*, 329–336.
- [153] A. Kastl, A. Wilbuer, A. L. Merkel, L. Feng, P. DiFazio, M. Ocker, E. Meggers, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 1863–1865.
- [154] S. M. Weber, *In vitro Untersuchungen zur Zellviabilität ausgewählter Krebszelllinien nach Behandlung mit dargestellten Ruthenium(II)-Komplexen auf Basis eines Pyridocarbazolliganden*, Bachelorarbeit, **2013**.
- [155] K. Wähler, *Entwicklung metallorganischer Verbindungen auf Basis eines Phenanthrolin-Liganden als Inhibitoren für Adenosinnukleotid-bindende Proteine*, Masterarbeit, **September 2012**.
- [156] A. N. Bullock, S. Russo, A. Amos, N. Pagano, H. Bregman, J. E. Debreczeni, W. H. Lee, F. von Delft, E. Meggers, S. Knapp, *PLoS ONE* **2009**, *4*, e7112.
- [157] S. Blanck, T. Cruchter, A. Vultur, R. Riedel, K. Harms, M. Herlyn, E. Meggers, *Organometallics* **2011**, *30*, 4598–4606.
- [158] S. Blanck, Y. Geisselbrecht, K. Kräling, S. Middel, T. Mietke, K. Harms, L.-O. Essen, E. Meggers, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 9337–9348.
- [159] K. C. Qian, L. Wang, E. R. Hickey, J. Studts, K. Barringer, C. Peng, A. Kronkaitis, J. Li, A. White, S. Mische, B. Farmer, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 6130–6137.
- [160] A. Kumar, V. Mandiyan, Y. Suzuki, C. Zhang, J. Rice, J. Tsai, D. R. Artis, P. Ibrahim, R. Bremer, *J. Mol. Biol.* **2005**, *348*, 183–193.
- [161] M. D. Jacobs, J. Black, O. Futer, L. Swenson, B. Hare, M. Fleming, K. Saxena, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 13728–13734.
- [162] A. N. Bullock, J. E. Debreczeni, A. L. Amos, S. Knapp, B. E. Turk, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 41675–41682.

- [163] A. N. Bullock, J. E. Debreczeni, O. Y. Fedorov, A. Nelson, B. D. Marsden, S. Knapp, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 7604–7614.
- [164] L. Brault, C. Gasser, F. Bracher, K. Huber, S. Knapp, J. Schwaller, *Haematologica* **2010**, *95*, 1004–1015.
- [165] A. L. Merkel, E. Meggers, M. Ocker, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2012**, *21*, 425–436.
- [166] V. Pogacic, A. N. Bullock, O. Fedorov, P. Filippakopoulos, C. Gasser, A. Biondi, S. Meyer-Monard, S. Knapp, J. Schwaller, *Cancer Res.* **2007**, *67*, 6916–6924.
- [167] J. Zhang, P. L. Yang, N. S. Gray, *Nat. Rev. Cancer* **2009**, *9*, 28–39.
- [168] W. L. F. Armarego, D. D. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*, Butterworth-Heinemann, Oxford [u.a.], **1997**.
- [169] M. Ranger, D. Rondeau, M. Leclerc, *Macromolecules* **1997**, *30*, 7686–7691.
- [170] T. P. Gill, K. R. Mann, *Organometallics* **1982**, *1*, 485–488.
- [171] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512–7515.
- [172] U. Mueller, N. Darowski, M. R. Fuchs, R. Foerster, M. Hellmig, K. S. Paithankar, S. Puehringer, M. Steffien, G. Zocher, M. S. Weiss, *J. Synchrotron Radiat.* **2012**, *19*, 442–449.
- [173] W. Kabsch, *Acta cryst. D* **2010**, *66*, 125–132.
- [174] A. J. McCoy, R.-W. Grosse-Kunstleve, P. D. Adams, M. D. Winn, L. C. Storoni, R. J. Read, *J. Appl. Cryst.* **2007**, *40*, 658–674.
- [175] P. D. Adams, P. V. Afonine, G. Bunkoczi, V. B. Chen, I. W. Davis, N. Echols, J. J. Headd, L.-W. Hung, G. J. Kapral, R.-W. Grosse-Kunstleve, A. J. McCoy, N. W. Moriarty, R. Oeffner, R. J. Read, D. C. Richardson, J. S. Richardson, T. C. Terwilliger, P. H. Zwart, *Acta cryst D* **2010**, *66*, 213–221.
- [176] P. Emsley, B. Lohkamp, W. G. Scott, K. Cowtan, *Acta cryst D* **2010**, *66*, 486–501.

Literatur

- [177] R. Laskowski, M. MacArthur, D. Moss, J. Thornton, *J. Appl. Crystallogr.* **1993**, *26*, 283–291.

A. Anhang

A.1. Abkürzungsverzeichnis

^1H-NMR	Protonenresonanzspektroskopie
$^1\text{O}_2$	Singulett-Sauerstoff
^{13}C-NMR	Kohlenstoffresonanzspektroskopie
Abb.	Abbildung
ABL	<i>Abelson murine leukemia</i>
ADP	Adenosindiphosphat
APCI	Chemische Ionisation unter Atmosphärendruck
ATP	Adenosintriphosphat
BCR	<i>B-cell receptor</i>
Bn	Benzyl
BSA	Bovines Serumalbumin
bzw.	beziehungsweise
CAMK	<i>calmodulin dependent kinase</i>
CDCl_3	deuteriertes Chloroform
CD_3CN	deuteriertes Acetonitril
CPM	Anschläge pro Minute
d	Duplett
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol
DAPK1	<i>Death-associated protein kinase 1</i>
δ	chemische Verschiebung
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DEAD	Diethylaminoethylcellulose
d. h.	dass heißt
DIBAL	Diisobutylaluminiumhydrid
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid

DMSO-<i>d</i>₆	deuteriertes Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
D₂O	deuteriertes Wasser
DYRK1A	<i>dual-specificity tyrosine phosphorylation regulated kinase 1A</i>
EC₅₀	mittlere effektive Konzentration
<i>E. coli</i>	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGTA	Ethylenglycol-bis(aminoethylether)- <i>N-N-N'-N'</i> -tetraessigsäure
eq	Äquivalente
ER	Endoplasmatisches Retikulum
Erk	<i>extracellular signal-regulated kinases</i>
ESI	Elektronenspray-Ionisierung
Et	Ethyl
<i>et al.</i>	und andere
evtl.	eventuell
Fas	Rezeptor auf der Zelloberfläche
FBS	Fetales Kälberserum
FT-IR	Fouriertransformation-Infrarotspektroskopie
GFP	grün fluoreszierendes Protein
h	Stunde
HBSS	<i>Hank's Buffered Salt Solution</i>
HeLa Zellen	menschliche Epithelzellen eines Zervixkarzinoms
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
HPD	Hämatoporphyrin-Derivat
HRMS	hochaufgelöste Massenspektrometrie
IC	<i>Internal Conversion</i>
IC₅₀	Konzentration, bei der die Restaktivität des Enzyms 50 % beträgt
I-Effekt	induktiver Effekt
<i>i</i>Pr	<i>iso</i> -Propyl
IPTG	<i>Isopropyl-β</i> -D-thiogalactopyranosid
IR	Infrarot

A.1. Abkürzungsverzeichnis

ISC	<i>Intersystem Crossing</i>
J	Kopplungskonstante
Kap.	Kapitel
LB	<i>lysogeny broth</i>
LED	Leuchtdiode
LiHMDS	Lithium-bis(trimethylsilyl)-amid
LP	<i>low-pass</i>
m	Multipllett (NMR)
MAG3	Mercaptoacetyltriglycin
max	maximal
Me	Methyl
M-Effekt	mesomerer Effekt
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
MeCN	Acetonitril
min	Minute
MLCK	Myosin-leichte-Ketten-Kinase
NTA	Nitriloessigsäure
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl
OD	Optische Dichte
ORTEP	<i>Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot Programm</i>
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
PDT	Photodynamische Therapie
PEG	Polyethylenglycol
ppm	Teile von einer Million
PS	Photosensibilisator
q	Quartett
R_f	Retentionsfaktor
RFP	rot fluoreszierendes Protein
rel.	relativ
RNO	<i>reactive nitrogen oxide</i>
ROS	reaktive Sauerstoff-Spezies

rpm	Umdrehungen pro Minute
RuPhos	2-Dicyclohexylphosphino-2',6'-diisopropoxybiphenyl
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
sog.	sogenannt
t	Triplett
Tab.	Tabelle
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TEV	Tobacco Etch Virus
TGF	<i>transforming growth factor</i>
THF	Tetrahydrofuran
TMR	Tetramethylrhodamin
TNF	Tumornekrosefaktor
UV	Ultraviolett
Vbd.	Verbindung
vgl.	vergleiche
Vis	sichtbares Licht
z. B.	zum Beispiel

A.2. Verbindungsverzeichnis

A.2.1. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.1

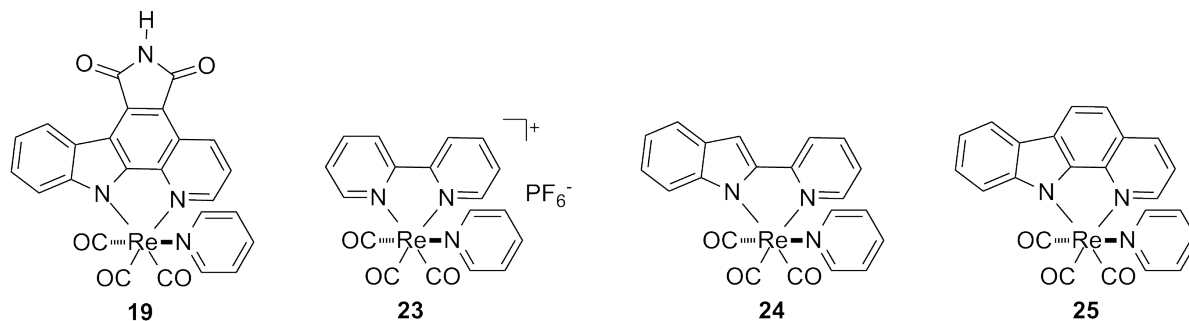


Abb. 1.1: Untersuchte Verbindungen aus Abschnitt 3.1.1.

A.2.2. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.2

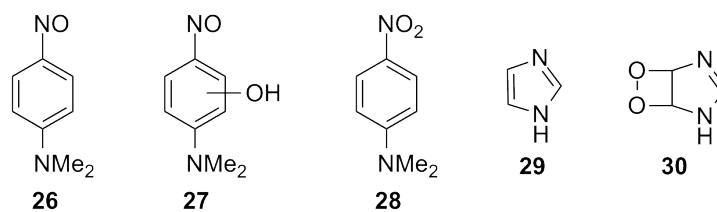


Abb. 1.2: Untersuchte Verbindungen aus Abschnitt 3.1.2.

A.2.3. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.3

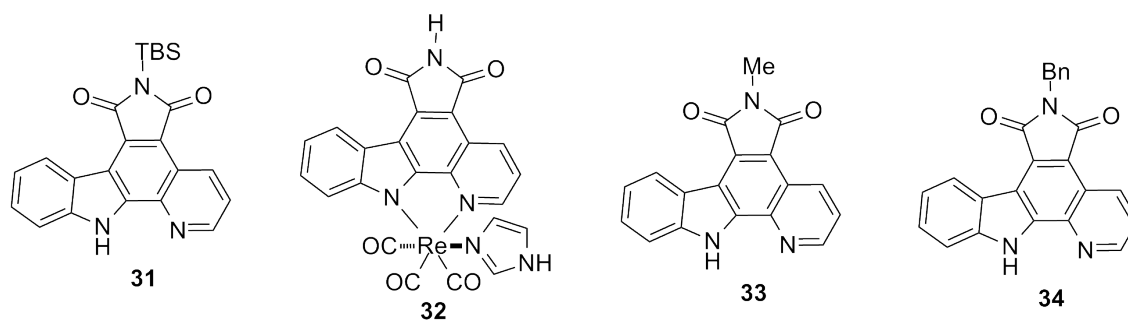


Abb. 1.3: Untersuchte Verbindungen aus Abschnitt 3.1.3 (I).

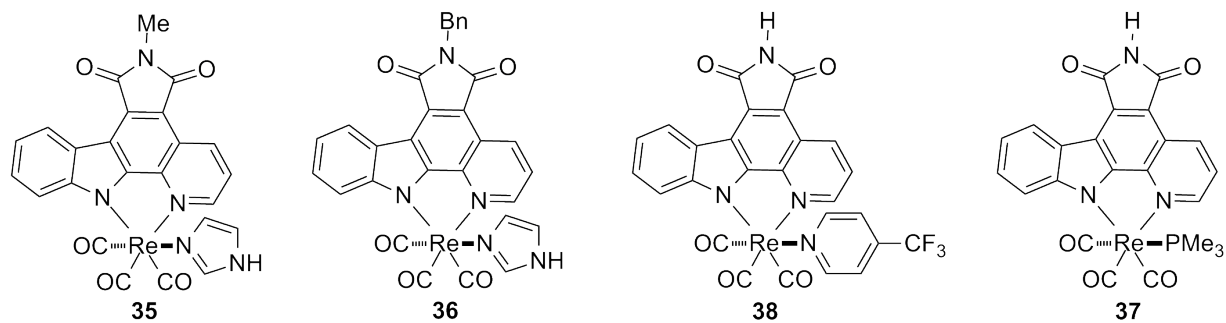


Abb. 1.4: Untersuchte Verbindungen aus Abschnitt 3.1.3 (II).

A.2.4. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.4

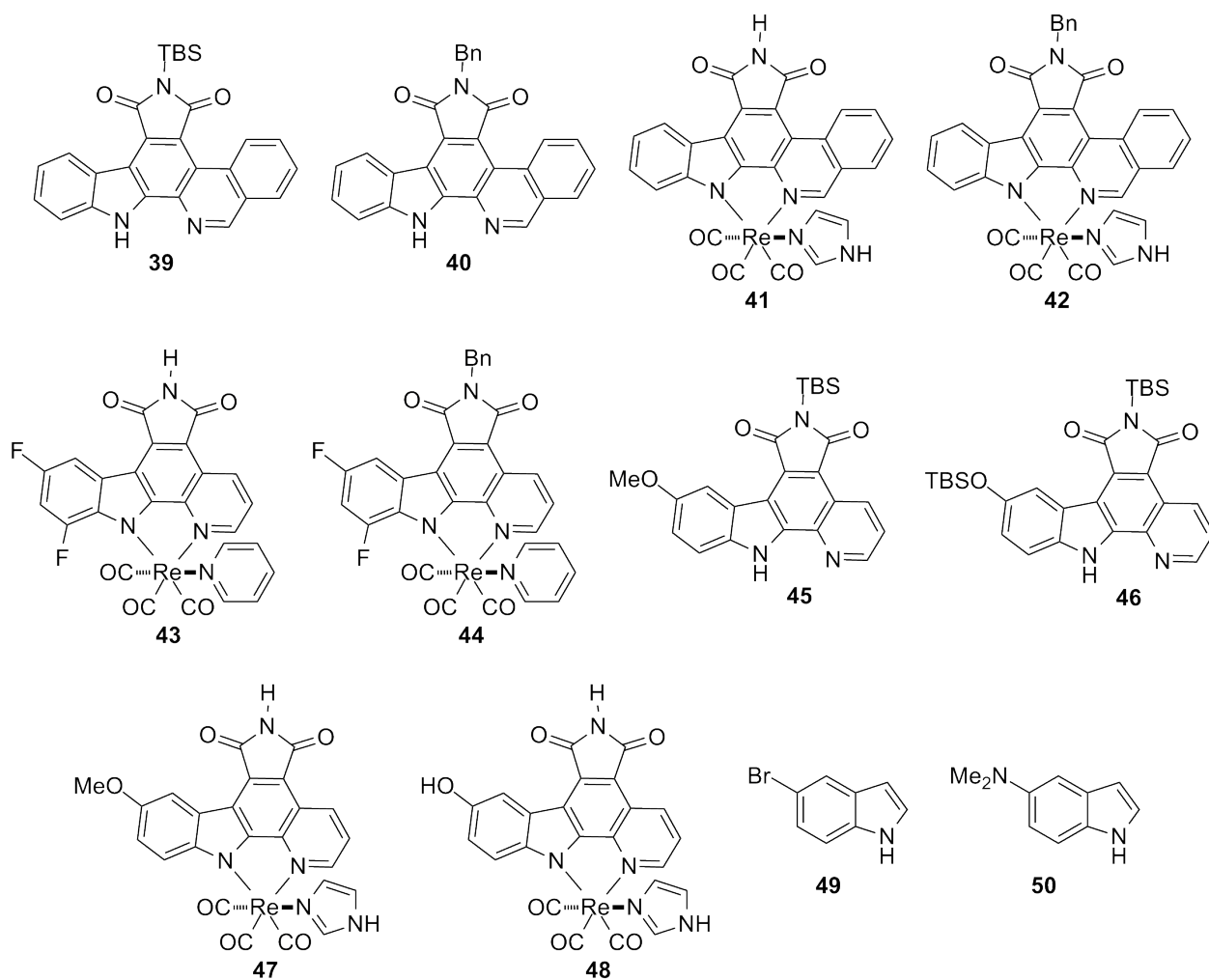


Abb. 1.5: Untersuchte Verbindungen aus Abschnitt 3.1.4 (I).

A.2. Verbindungsverzeichnis

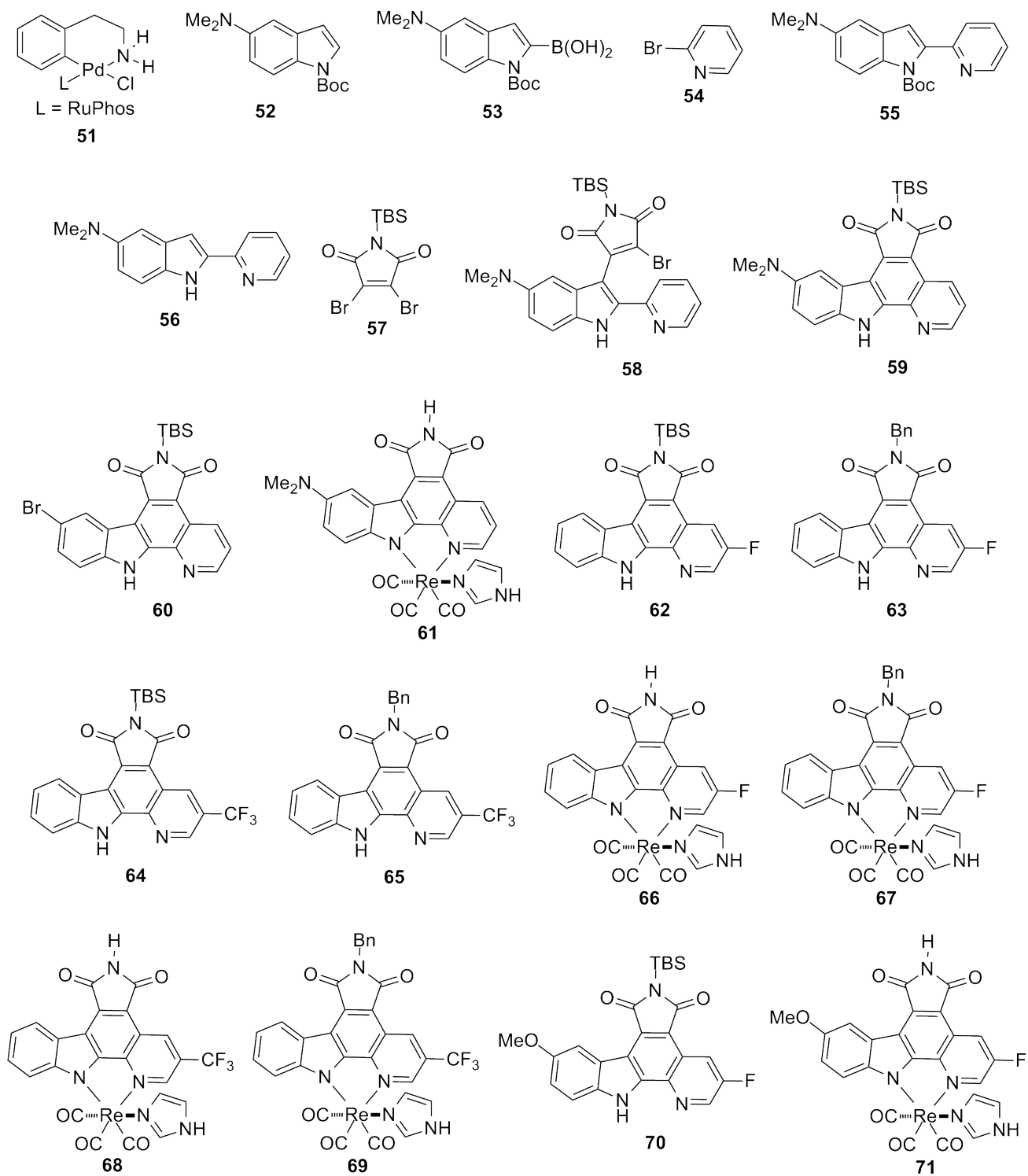


Abb. 1.6: Untersuchte Verbindungen aus Abschnitt 3.1.4 (II).

A.2.5. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.5

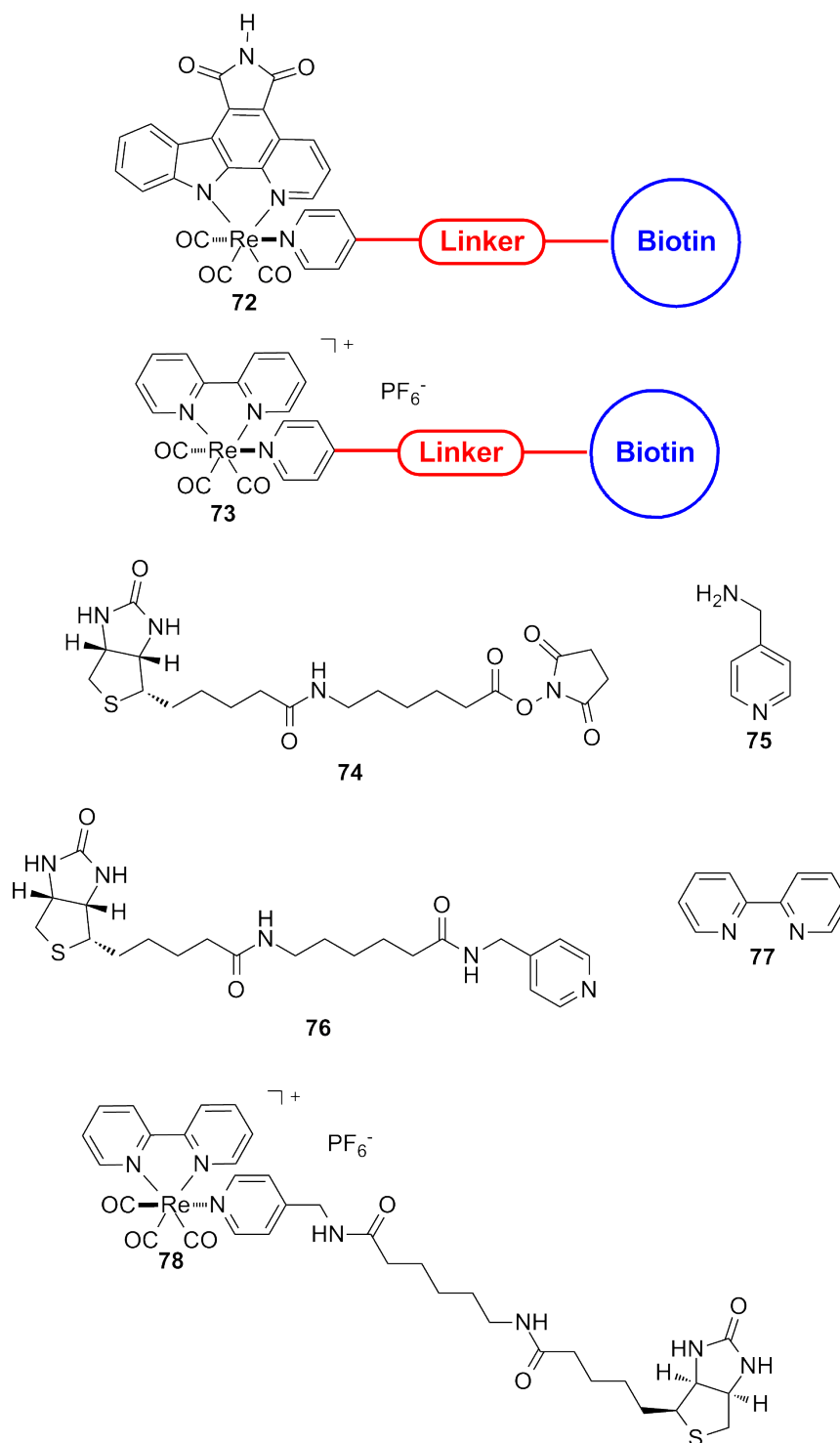


Abb. 1.7: Untersuchte Verbindungen aus Abschnitt 3.1.5 (I).

A.2. Verbindungsverzeichnis

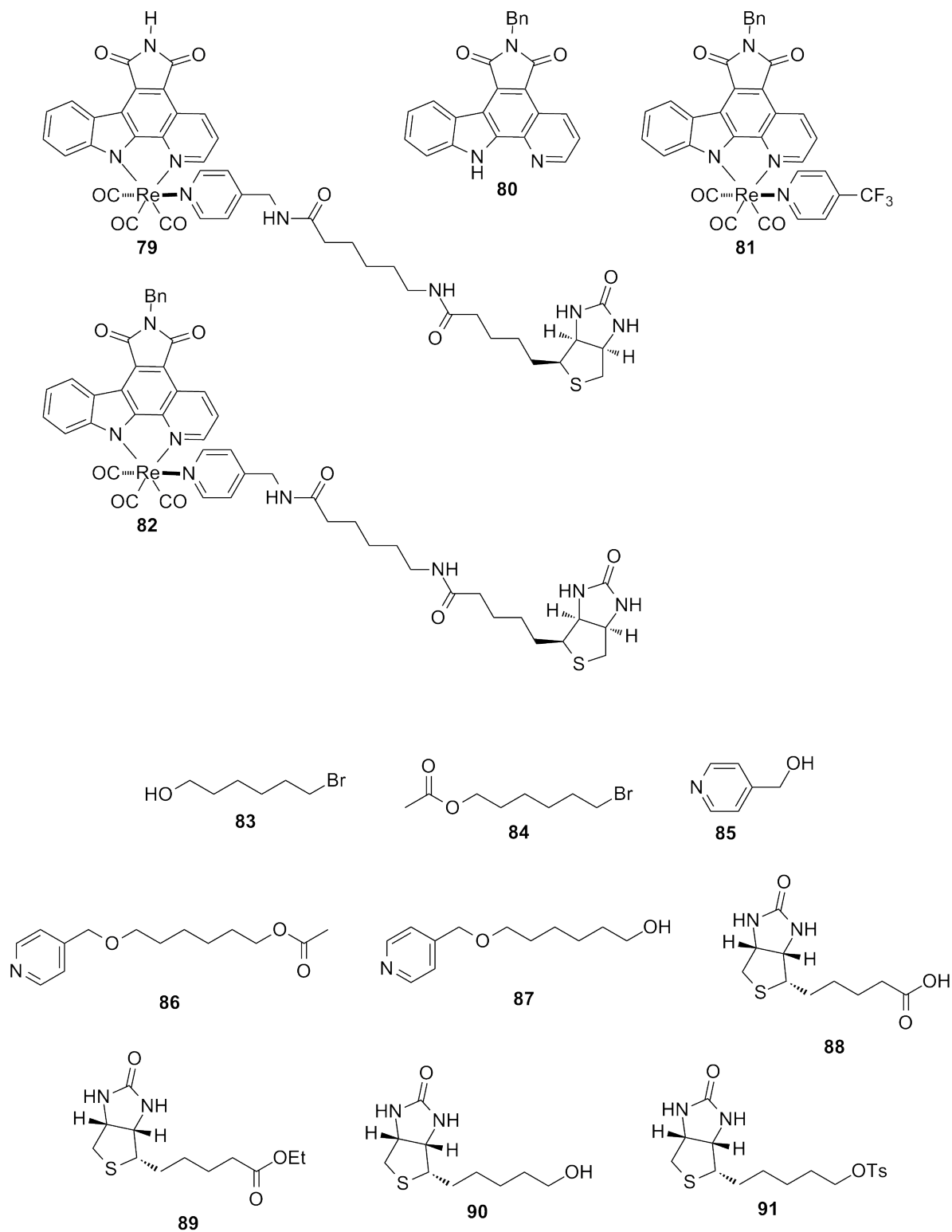


Abb. 1.8: Untersuchte Verbindungen aus Abschnitt 3.1.5 (II).

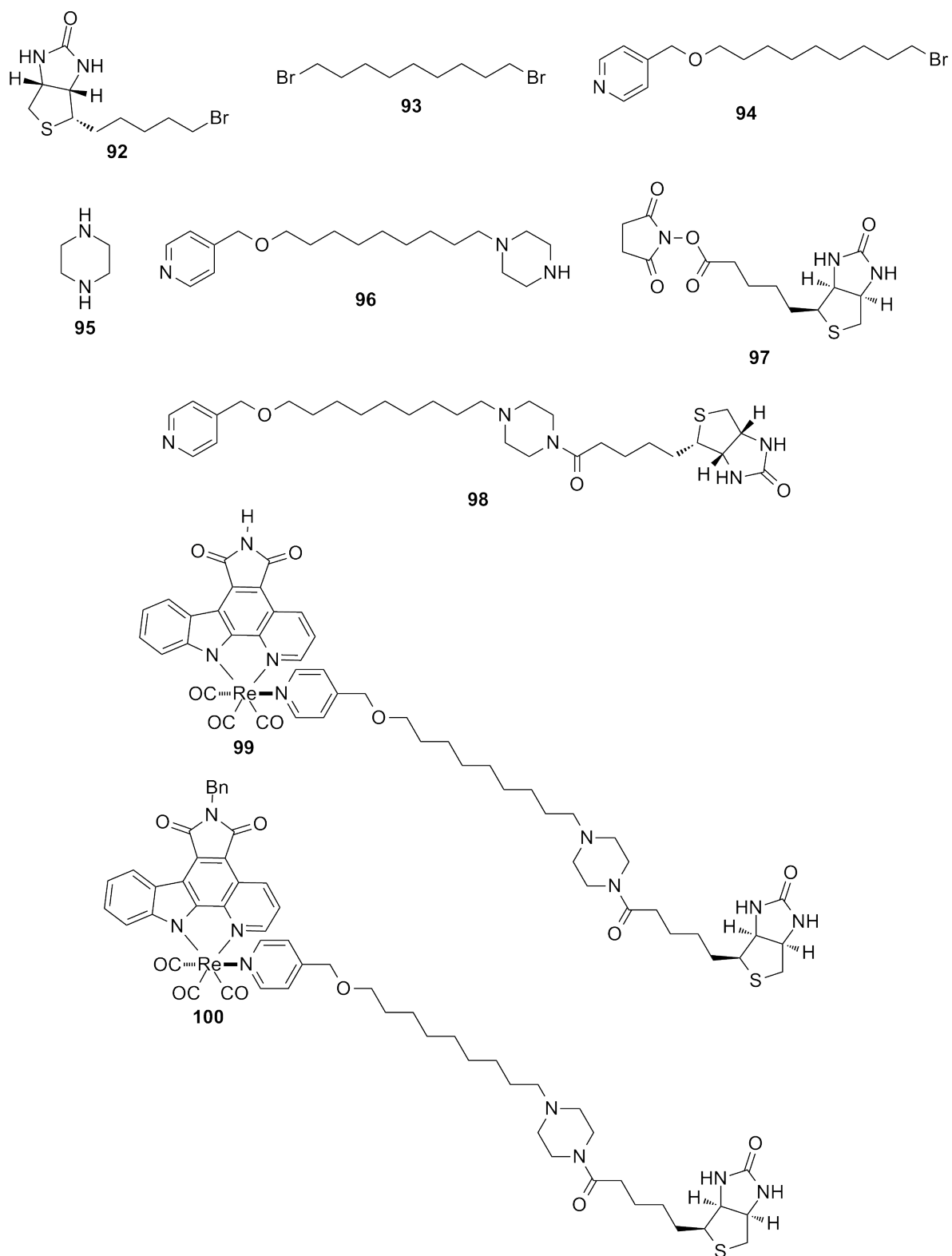


Abb. 1.9: Untersuchte Verbindungen aus Abschnitt 3.1.5 (III).

A.2. Verbindungsverzeichnis

A.2.6. Verbindungen aus Abschnitt 3.1.7

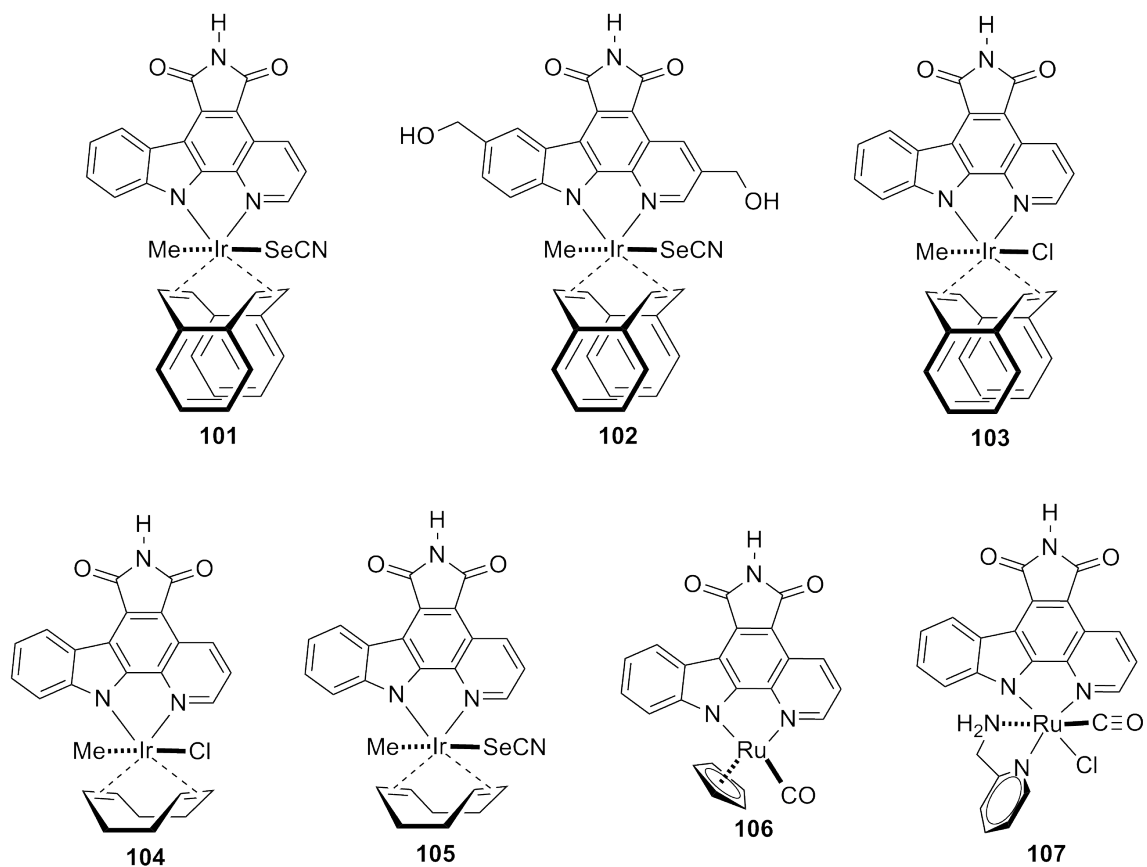


Abb. 1.10: Untersuchte Verbindungen aus Abschnitt 3.1.7.

A.2.7. Verbindungen aus Abschnitt 3.2.1

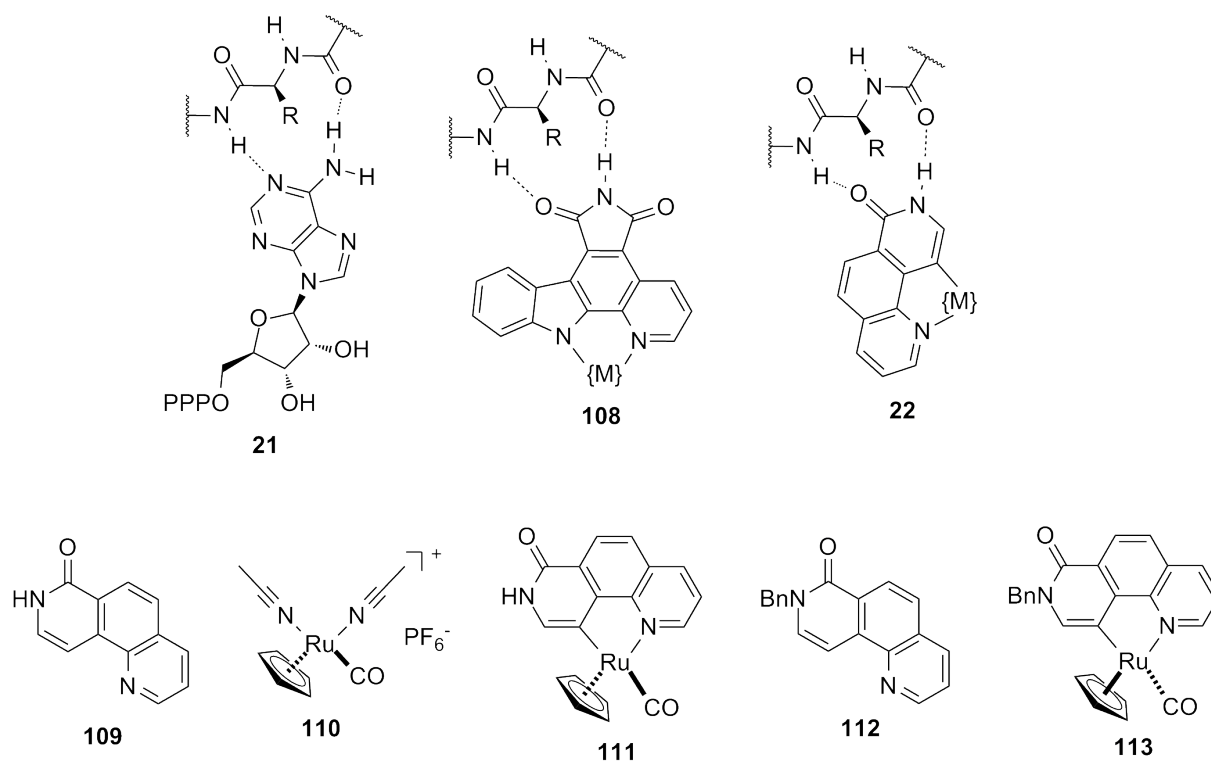


Abb. 1.11: Untersuchte Verbindungen aus Abschnitt 3.2.1.

A.3. Singulett-Sauerstoff-Daten

Tab. 1.1: Singulett-Sauerstoff-Produktion aller untersuchten Verbindungen ($50\text{ }\mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50\text{ }\mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten.

Vbd.	Lampe	Belichtung /min	λ /nm	belichtet	unbelichtet
19	Hg/Xe	30	330	0.074 ± 0.0094	-0.010 ± 0.017
19	Hg/Xe	30	415	0.049 ± 0.010	
19	Hg/Xe	30	505	0.047 ± 0.011	
23	Hg/Xe	30	330	0.071 ± 0.025	-0.015 ± 0.0089
23	Hg/Xe	30	415	0.0043 ± 0.0042	
23	Hg/Xe	30	505	0.00023 ± 0.019	
24	Hg/Xe	30	330	0.075 ± 0.019	-0.011 ± 0.0066
24	Hg/Xe	30	415	0.036 ± 0.0032	
24	Hg/Xe	30	505	0.010 ± 0.015	
25	Hg/Xe	30	330	0.28 ± 0.040	-0.0083 ± 0.0088
25	Hg/Xe	30	415	0.14 ± 0.025	
25	Hg/Xe	30	505	0.011 ± 0.018	
32	Hg/Xe	30	505	0.041 ± 0.0086	-0.015 ± 0.0096
32	LED	60	—	0.064 ± 0.0099	-0.0015 ± 0.0029
32	LED	60	505	0.044 ± 0.0040	
32	LED	60	560	0.021 ± 0.0068	
32	LED	60	580	0.018 ± 0.0052	
32	LED	60	620	-0.0024 ± 0.0067	
37	LED	30	—	0.039 ± 0.0040	0.0058 ± 0.0062
41	Hg/Xe	30	505	0.042 ± 0.010	0.0030 ± 0.00086
43	LED	60	—	0.076 ± 0.0052	-0.0033 ± 0.0043
43	LED	60	505	0.047 ± 0.0042	
43	LED	60	560	0.020 ± 0.0084	
43	LED	60	580	0.0057 ± 0.0035	

Tab. 1.1: Singulett-Sauerstoff-Produktion aller untersuchten Verbindungen ($50\mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50\mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten (Fortsetzung).

Vbd.	Lampe	Belichtung /min	λ /nm	belichtet	unbelichtet
43	LED	60	620	0.0001 ± 0.0025	
47	LED	30	505	0.047 ± 0.018	-0.0031 ± 0.0070
48	LED	30	505	-0.0089 ± 0.0068	-0.0073 ± 0.0075
61	LED	30	—	-0.0067 ± 0.0030	-0.014 ± 0.013
66	LED	60	—	0.074 ± 0.0081	-0.0050 ± 0.0083
66	LED	60	505	0.057 ± 0.0072	
66	LED	60	560	0.035 ± 0.0062	
66	LED	60	580	0.024 ± 0.0046	
66	LED	60	620	0.0086 ± 0.0009	
68	LED	60	—	0.081 ± 0.0066	-0.0042 ± 0.011
68	LED	60	505	0.054 ± 0.012	
68	LED	60	560	0.055 ± 0.0046	
68	LED	60	580	0.032 ± 0.0072	
68	LED	60	620	0.015 ± 0.0085	
71	LED	60	620	0.0038 ± 0.0047	-0.014 ± 0.011
78	LED	30	—	0.061 ± 0.0033	0.00056 ± 0.0048
79	LED	30	—	0.080 ± 0.011	-0.0009 ± 0.0022
82	LED	30	—	0.095 ± 0.0059	-0.005 ± 0.0024
99	LED	30	—	0.042 ± 0.0034	-0.0033 ± 0.0033
100	LED	30	—	0.055 ± 0.0071	-0.021 ± 0.0078
101	Hg/Xe	30	505	0.089 ± 0.0046	0.010 ± 0.0071
102	Hg/Xe	30	505	0.080 ± 0.0077	0.0056 ± 0.0010
103	Hg/Xe	30	505	0.11 ± 0.0080	0.023
104	Hg/Xe	30	505	0.059 ± 0.0096	0.00003 ± 0.0019
105	Hg/Xe	30	505	0.12 ± 0.016	0.0008 ± 0.0029

A.3. Singulett-Sauerstoff-Daten

Tab. 1.1: Singulett-Sauerstoff-Produktion aller untersuchten Verbindungen ($50\text{ }\mu\text{M}$) in PBS/DMSO 1:1 nach einer Methode von KRALJIĆ und EL MOHSNI.^[115] Es wurde der Farbstoff *para*-Nitrosodimethylanilin ($50\text{ }\mu\text{M}$) in Gegenwart von Imidazol (8 mM) ohne Belichtung und nach Belichtung verwendet. Die Messwerte beruhen auf dem Durchschnitt von sechs Datenpunkten (Fortsetzung).

Vbd.	Lampe	Belichtung /min	λ /nm	belichtet	unbelichtet
106	LED	30	—	0.021 ± 0.0032	-0.0050 ± 0.0024
107	LED	30	—	0.022 ± 0.0030	-0.0039 ± 0.0012

A.4. Photozytotoxizitätsdaten

Tab. 1.2: Photozytotoxizität aller Verbindungen in HeLa Zellen. Die Komplexe wurden für eine Stunde inkubiert und im Anschluss belichtet. Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

Vbd.	c / μ M	Lampe	Belichtung /min	belichtet /%	unbelichtet /%
19	1	Hg/Xe	15 (330 nm)	0.64 ± 0.71	99.07 ± 9.35
19	1	Hg/Xe	60 (415 nm)	2.59 ± 2.21	124.13 ± 37.06
19	1	Hg/Xe	60 (505 nm)	-0.04 ± 0.47	103.86 ± 10.81
23	1	Hg/Xe	15 (330 nm)	91.20 ± 7.72	98.55 ± 9.68
23	1	Hg/Xe	60 (415 nm)	91.44 ± 9.02	92.34 ± 9.20
23	1	Hg/Xe	60 (505 nm)	100.03 ± 8.59	98.84 ± 10.28
24	1	Hg/Xe	15 (330 nm)	5.30 ± 1.83	94.49 ± 12.09
24	1	Hg/Xe	60 (415 nm)	1.87 ± 1.08	100.96 ± 8.34
24	1	Hg/Xe	60 (505 nm)	89.89 ± 7.37	94.89 ± 16.02
25	1	Hg/Xe	15 (330 nm)	0.16 ± 0.27	100.32 ± 11.01
25	1	Hg/Xe	60 (415 nm)	0.59 ± 0.55	96.06 ± 9.52
25	1	Hg/Xe	60 (505 nm)	97.21 ± 5.40	100.24 ± 12.26
32	1	Hg/Xe	60 (505 nm)	0.88 ± 0.83	99.14 ± 12.47
32	1	LED	30	1.24 ± 0.70	96.84 ± 9.46
32	1	LED	30 (505 nm)	2.76 ± 0.65	97.81 ± 7.89
32	1	LED	30 (560 nm)	13.41 ± 1.97	102.25 ± 7.32
32	1	LED	30 (580 nm)	29.78 ± 7.74	102.70 ± 6.87
32	1	LED	30 (620 nm)	99.38 ± 12.37	102.33 ± 9.10
32	5	LED	60 (620 nm)	46.48 ± 4.87	95.17 ± 5.99
35	1	Hg/Xe	60 (505 nm)	16.38 ± 14.54	102.46 ± 9.42
36	1	Hg/Xe	60 (505 nm)	0.65 ± 0.80	102.84 ± 9.15
37	1	LED	30	0.45 ± 0.91	106.57 ± 10.81
41	1	Hg/Xe	60 (505 nm)	30.70 ± 16.74	113.95 ± 9.15
43	1	LED	30	3.12 ± 2.67	108.17 ± 15.37

A.4. Photozytotoxizitätsdaten

Tab. 1.2: Photozytotoxizität aller Verbindungen in HeLa Zellen. Die Komplexe wurden für eine Stunde inkubiert und im Anschluss belichtet. Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindungen bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten (Fortsetzung).

Vbd.	c / μ M	Lampe	Belichtung /min	belichtet /%	unbelichtet /%
43	1	LED	30 (505 nm)	6.23 \pm 1.31	107.51 \pm 11.37
43	1	LED	30 (560 nm)	81.33 \pm 7.53	107.56 \pm 14.28
43	1	LED	30 (580 nm)	92.09 \pm 5.41	104.41 \pm 9.51
43	1	LED	30 (620 nm)	92.91 \pm 5.29	98.79 \pm 6.44
47	1	LED	60	7.67 \pm 4.15	94.43 \pm 8.75
48	1	LED	60	93.95 \pm 4.66	92.74 \pm 8.40
61	5	LED	60	105.80 \pm 6.96	102.83 \pm 14.93
66	1	LED	30	1.78 \pm 1.15	103.79 \pm 11.09
66	1	LED	30 (505 nm)	2.29 \pm 0.80	103.66 \pm 7.74
66	1	LED	30 (560 nm)	5.61 \pm 1.10	102.35 \pm 5.80
66	1	LED	30 (580 nm)	7.64 \pm 2.14	104.80 \pm 10.33
66	1	LED	30 (620 nm)	91.23 \pm 10.32	100.15 \pm 8.68
66	5	LED	60 (620 nm)	10.47 \pm 1.59	92.71 \pm 11.13
68	1	LED	30	7.77 \pm 3.31	101.41 \pm 10.05
68	1	LED	30 (505 nm)	8.15 \pm 1.77	99.33 \pm 9.43
68	1	LED	30 (560 nm)	15.20 \pm 3.33	96.81 \pm 8.34
68	1	LED	30 (580 nm)	24.83 \pm 5.67	101.60 \pm 11.56
68	1	LED	30 (620 nm)	97.14 \pm 7.23	101.94 \pm 9.00
68	5	LED	60 (620 nm)	28.03 \pm 3.25	96.06 \pm 8.56
71	5	LED	60 (620 nm)	20.44 \pm 3.51	94.92 \pm 10.42
78	5	LED	60	105.55 \pm 11.05	95.69 \pm 9.58
79	5	LED	60	20.38 \pm 5.43	96.25 \pm 9.18
82	5	LED	60	7.68 \pm 1.86	99.90 \pm 8.96
99	5	LED	60	2.68 \pm 1.82	98.64 \pm 9.66
100	5	LED	60	87.54 \pm 18.97	98.89 \pm 9.03
107	1	LED	60	14.15 \pm 7.82	98.45 \pm 5.56

A.5. Ergebnisse der Tocopherol-Messungen

Tab. 1.3: Einfluss von α -Tocopherol auf den photozytotoxischen Effekt von Komplex **32**. HeLa Zellen wurden in Anwesenheit von α -Tocopherol für 24 Stunden kultiviert. Im Anschluss wurde **32** für eine Stunde inkubiert und mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe für 30 Minuten belichtet ($\lambda \geq 505$ nm). Das Zellüberleben wurde mittels MTT-Viabilitätsassay 24 Stunden nach Zugabe der Verbindung bestimmt. Die Ergebnisse basieren auf dem Durchschnitt von 18 Messwerten.

Vbd.	Tocopherol	belichtet /%	unbelichtet /%
32	—	9.46 ± 5.31	106.25 ± 12.37
32	200 μ M	67.06 ± 8.51	95.36 ± 13.71

A.6. Ergebnisse der EC_{50} -Messungen

Tab. 1.4: Lichtinduzierte, antiproliferative Aktivität des Rhenium(I)-Komplexes **19** in HeLa Zellen. Experimentelle Angaben: Eine Stunde nach Zugabe der Verbindung wurden die Zellen mit einer 200 W Hg/Xe Bogenlampe für 60 Minuten bei einer Wellenlänge von $\lambda \geq 505$ nm belichtet. Die Zytotoxizität wurde nach weiteren 22 Stunden mittels MTT-Viabilitätsassay bestimmt. Die Standardabweichungen beruhen auf zwei unabhängigen Messungen mit insgesamt 18 Messpunkten für jede Konzentration.

Vbd.	c / μ M	belichtet /%	unbelichtet /%
19	0.01	97.99 ± 9.93	95.58 ± 10.09
19	0.03	88.03 ± 4.59	93.37 ± 11.78
19	0.1	57.76 ± 13.07	101.25 ± 9.74
19	0.3	8.21 ± 4.08	106.00 ± 10.87
19	1.0	-0.04 ± 0.47	103.86 ± 10.81
19	3.0	1.67 ± 1.30	111.22 ± 11.59
19	10	1.28 ± 0.77	118.10 ± 18.03
19	30	2.59 ± 1.22	83.80 ± 27.09
19	100	1.27 ± 0.77	54.61 ± 5.64

Tab. 1.5: Lichtinduzierte, antiproliferative Aktivität des Rhenium(I)-Komplexes **66** in HeLa Zellen. Experimentelle Angaben: Eine Stunde nach Zugabe der Verbindung wurden die Zellen mit einem LED Reflektor für 30 Minuten bei einer Wellenlänge von $\lambda \geq 580$ nm belichtet. Die Zytotoxizität wurde nach weiteren 24 Stunden mittels MTT-Viabilitätsassay bestimmt. Die Standardabweichungen beruhen auf zwei unabhängigen Messungen mit insgesamt 18 Messpunkten für jede Konzentration.

Vbd.	c / μ M	belichtet /%	unbelichtet /%
66	0.01	94.57 ± 7.27	102.10 ± 8.65
66	0.1	92.29 ± 5.10	97.99 ± 6.70
66	0.3	53.25 ± 6.35	99.54 ± 5.59
66	1.0	9.25 ± 1.93	100.76 ± 6.29
66	3.0	1.28 ± 0.42	94.61 ± 7.37
66	10	1.03 ± 0.38	51.22 ± 12.22
66	100	0.84 ± 0.84	3.25 ± 1.48

A.7. Ergebnisse der IC_{50} -Messungen

A.7. Ergebnisse der IC_{50} -Messungen

Tab. 1.6: IC_{50} -Werte des Rhenium(I)-Komplexes **19** gegen Pim1 bei einer ATP-Konzentration von $10\ \mu\text{M}$.

c / μM	Aktivität /%
0.001	104.38
0.01	93.46
0.1	46.16
0.3	29.13
1.0	9.46
10	0.53
100	0.066

Tab. 1.7: IC_{50} -Werte des Rhenium(I)-Komplexes **32** gegen Pim1 bei einer ATP-Konzentration von $10\ \mu\text{M}$.

c / μM	Aktivität /%
0.001	102.72
0.01	86.16
0.1	37.75
0.3	16.54
1.0	4.97
10	0.29
100	0.046

Tab. 1.8: IC₅₀-Werte des Rhenium(I)-Komplexes **37** gegen Pim1 bei einer ATP-Konzentration von 10 μ M.

c /μM	Aktivität /%
0.001	110.43
0.01	108.09
0.1	96.89
0.3	74.59
1.0	38.38
10	12.70
100	7.39

Tab. 1.9: IC₅₀-Werte des Rhenium(I)-Komplexes **66** gegen Pim1 bei einer ATP-Konzentration von 10 μ M.

c /μM	Aktivität /%
0.001	100.61
0.01	90.19
0.1	40.92
0.3	17.62
1.0	5.34
10	0.40
100	0.16

A.7. Ergebnisse der IC_{50} -Messungen

Tab. 1.10: IC_{50} -Werte des Liganden **109** gegen DYRK1A bei einer ATP-Konzentration von $1\ \mu\text{M}$.

c / μM	Aktivität /%
0.1	97.02
1.0	80.73
3.0	59.92
10	32.30
30	13.66
100	4.76
1000	0.88

Tab. 1.11: IC_{50} -Werte des Ruthenium(II)-Komplexes **111** gegen DYRK1A bei einer ATP-Konzentration von $1\ \mu\text{M}$.

c / μM	Aktivität /%
0.01	97.49
0.03	95.57
0.1	92.07
0.3	87.43
1.0	66.09
3.0	39.17
10	16.62
100	2.27

Tab. 1.12: IC₅₀-Werte des Ruthenium(II)-Komplexes **111** gegen Pim1 bei einer ATP-Konzentration von 1 μ M.

c / μ M	Aktivität /%
0.01	91.60
0.1	91.78
1.0	69.45
3.0	39.55
10	13.96
30	5.02
100	1.29

Tab. 1.13: IC₅₀-Werte des Ruthenium(II)-Komplexes **111** gegen Pim2 bei einer ATP-Konzentration von 1 μ M.

c / μ M	Aktivität /%
0.01	93.34
0.03	89.81
0.1	94.22
0.3	84.55
1.0	67.58
3.0	40.59
10	15.90
30	5.04
100	1.78

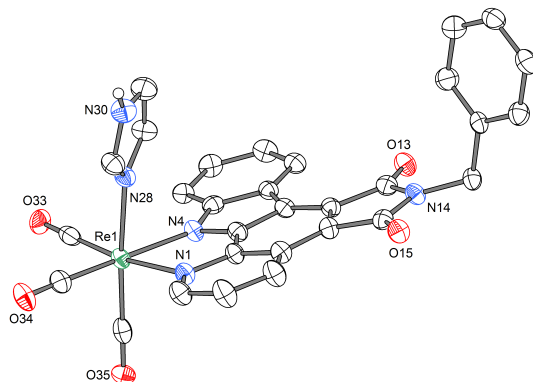
A.7. Ergebnisse der IC_{50} -Messungen

Tab. 1.14: IC_{50} -Werte des Ruthenium(II)-Komplexes **113** gegen DYRK1A bei einer ATP-Konzentration von $1 \mu\text{M}$.

c / μM	Aktivität / %
0.1	96.09
1.0	96.21
10	97.65
30	84.19
100	58.74
300	40.42
1000	38.15

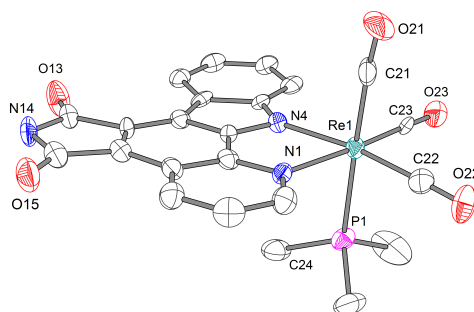
A.8. Kristallstrukturdaten

Kristallstrukturdaten von Verbindung **36**



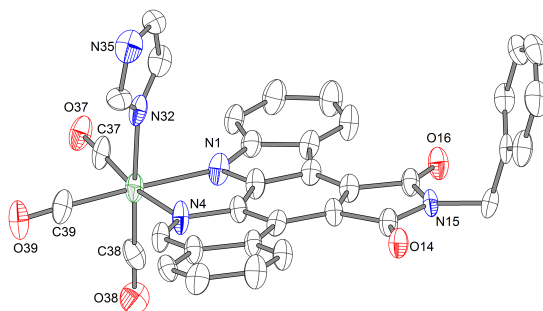
Tab. 1.15: Kristallographische Daten von Verbindung **36**.

Formel	$\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_4\text{Re}, 0.5 (\text{CH}_2\text{Cl}_2), 0.5 (\text{H}_2\text{O})$
fw	851.09
a (Å)	21.1191(6)
b (Å)	13.0003(3)
c (Å)	24.0501(8)
α (°)	90
β (°)	111.443(2)
γ (°)	90
V (Å ³)	6146.0(3)
Z	8
Raumgruppe	C 2/c
$d_{\text{berechnet}}$ (Mg/m ³)	1.840
μ (mm ⁻¹)	4.268
unabhängige Reflexionen	6516
Parameter	429
wR2 (gesamt)	0.0768
R1 (I > 2σ(I))	0.0314
CCDC-Nr.	967668

Kristallstrukturdaten von Verbindung **37****Tab. 1.16:** Kristallographische Daten von Verbindung **37**.

Formel	C ₂₅ H ₂₃ N ₃ O ₆ ReS
fw	710.69
a (Å)	7.7722(7)
b (Å)	10.5792(11)
c (Å)	17.1857(17)
α (°)	103.985(4)
β (°)	97.535(4)
γ (°)	105.469(4)
V (Å ³)	1292.3(2)
Z	2
Raumgruppe	P-1
d _{berechnet} (Mg/m ³)	1.826
μ (mm ⁻¹)	4.890
unabhängige Reflexionen	4798
Parameter	391
wR2 (gesamt)	0.1169
R1 (I > 2 σ (I))	0.0547
CCDC-Nr.	967669

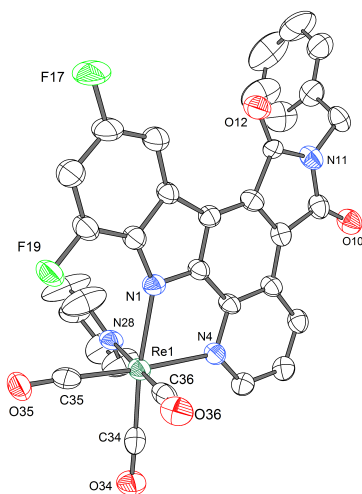
Kristallstrukturdaten von Verbindung 42



Tab. 1.17: Kristallographische Daten von Verbindung **42**.

Formel	C ₃₅ H ₂₂ Cl ₂ N ₅ O ₅ Re
fw	849.68
a (Å)	8.2826(4)
b (Å)	26.6995(15)
c (Å)	14.1589(9)
α (°)	90
β (°)	93.677(5)
γ (°)	90
V (Å ³)	3124.7(3)
Z	4
Raumgruppe	P 2 ₁ /c
d _{berechnet} (Mg/m ³)	1.806
μ (mm ⁻¹)	4.113
unabhängige Reflexionen	5642
Parameter	452
wR2 (gesamt)	0.0739
R1 (I > 2 σ (I))	0.0403

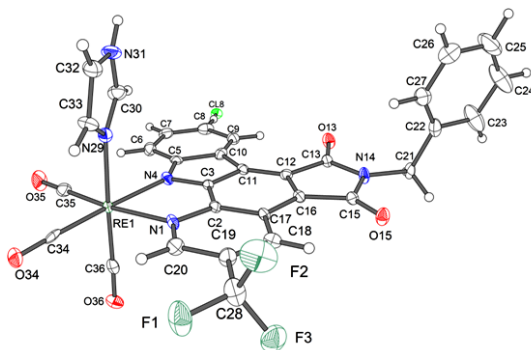
Kristallstrukturdaten von Verbindung 44



Tab. 1.18: Kristallographische Daten von Verbindung 44.

Formel	$\text{C}_{32}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_5\text{Re}$, 0.5 Hexan
fw	804.78
a (Å)	10.9010(3)
b (Å)	21.0936(4)
c (Å)	26.7395(5)
α (°)	90
β (°)	93.294(2)
γ (°)	90
V (Å ³)	6138.4(2)
Z	8
Raumgruppe	P 2 ₁ /c
$d_{\text{berechnet}}$ (Mg/m ³)	1.742
μ (mm ⁻¹)	4.022
unabhängige Reflexionen	12981
Parameter	823
wR2 (gesamt)	0.0726
R1 (I > 2 σ (I))	0.0359

Kristallstrukturdaten von Verbindung 69



Tab. 1.19: Kristallographische Daten von Verbindung **69**.

Formel	$\text{C}_{32}\text{H}_{18.90}\text{Cl}_{2.10}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_5\text{Re}$
fw	870.99
a (Å)	10.2365(3)
b (Å)	11.8866(4)
c (Å)	13.5889(4)
α (°)	68.5762(12)
β (°)	83.1213(11)
γ (°)	79.5272(12)
V (Å ³)	1511.00(8)
Z	2
Raumgruppe	P-1
$d_{\text{berechnet}}$ (Mg/m ³)	1.914
μ (mm ⁻¹)	4.278
unabhängige Reflexionen	5410
Parameter	443
wR2 (gesamt)	0.0791
R1 (I > 2σ(I))	0.0334

A.9. KINOMEScan-Ergebnisse der Firma DiscoverX**Tab. 1.20:** Screening-Ergebnisse von Verbindung **32**.

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
AAK1	AAK1	70
ABL1(E255K)-phosphorylated	ABL1	68
ABL1(F317I)-nonphosphorylated	ABL1	100
ABL1(F317I)-phosphorylated	ABL1	100
ABL1(F317L)-nonphosphorylated	ABL1	100
ABL1(F317L)-phosphorylated	ABL1	69
ABL1(H396P)-nonphosphorylated	ABL1	100
ABL1(H396P)-phosphorylated	ABL1	73
ABL1(M351T)-phosphorylated	ABL1	71
ABL1(Q252H)-nonphosphorylated	ABL1	100
ABL1(Q252H)-phosphorylated	ABL1	71
ABL1(T315I)-nonphosphorylated	ABL1	100
ABL1(T315I)-phosphorylated	ABL1	79
ABL1(Y253F)-phosphorylated	ABL1	72
ABL1-nonphosphorylated	ABL1	100
ABL1-phosphorylated	ABL1	60
ABL2	ABL2	89
ACVR1	ACVR1	78
ACVR1B	ACVR1B	100
ACVR2A	ACVR2A	82
ACVR2B	ACVR2B	86
ACVRL1	ACVRL1	78
ADCK3	CABC1	80
ADCK4	ADCK4	79
AKT1	AKT1	96
AKT2	AKT2	98
AKT3	AKT3	100

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
ALK	ALK	85
ALK(C1156Y)	ALK	60
ALK(L1196M)	ALK	67
AMPK-alpha1	PRKAA1	100
AMPK-alpha2	PRKAA2	100
ANKK1	ANKK1	74
ARK5	NUAK1	44
ASK1	MAP3K5	93
ASK2	MAP3K6	52
AURKA	AURKA	80
AURKB	AURKB	81
AURKC	AURKC	72
AXL	AXL	89
BIKE	BMP2K	89
BLK	BLK	78
BMPR1A	BMPR1A	100
BMPR1B	BMPR1B	100
BMPR2	BMPR2	53
BMX	BMX	99
BRAF	BRAF	52
BRAF(V600E)	BRAF	78
BRK	PTK6	80
BRSK1	BRSK1	100
BRSK2	BRSK2	72
BTK	BTK	100
BUB1	BUB1	62
CAMK1	CAMK1	99
CAMK1D	CAMK1D	96

A.9. *KINOMEScan*-Ergebnisse der Firma DiscoveRx

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
CAMK1G	CAMK1G	96
CAMK2A	CAMK2A	80
CAMK2B	CAMK2B	71
CAMK2D	CAMK2D	93
CAMK2G	CAMK2G	99
CAMK4	CAMK4	92
CAMKK1	CAMKK1	95
CAMKK2	CAMKK2	100
CASK	CASK	76
CDC2L1	CDK11B	88
CDC2L2	CDC2L2	98
CDC2L5	CDK13	89
CDK11	CDK19	97
CDK2	CDK2	100
CDK3	CDK3	89
CDK4-cyclinD1	CDK4	100
CDK4-cyclinD3	CDK4	48
CDK5	CDK5	90
CDK7	CDK7	90
CDK8	CDK8	100
CDK9	CDK9	91
CDKL1	CDKL1	76
CDKL2	CDKL2	93
CDKL3	CDKL3	100
CDKL5	CDKL5	84
CHEK1	CHEK1	92
CHEK2	CHEK2	97
CIT	CIT	98

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
CLK1	CLK1	79
CLK2	CLK2	77
CLK3	CLK3	66
CLK4	CLK4	100
CSF1R	CSF1R	100
CSF1R-autoinhibited	CSF1R	58
CSK	CSK	83
CSNK1A1	CSNK1A1	90
CSNK1A1L	CSNK1A1L	88
CSNK1D	CSNK1D	100
CSNK1E	CSNK1E	100
CSNK1G1	CSNK1G1	100
CSNK1G2	CSNK1G2	79
CSNK1G3	CSNK1G3	92
CSNK2A1	CSNK2A1	52
CSNK2A2	CSNK2A2	98
CTK	MATK	100
DAPK1	DAPK1	100
DAPK2	DAPK2	73
DAPK3	DAPK3	87
DCAMKL1	DCLK1	100
DCAMKL2	DCLK2	94
DCAMKL3	DCLK3	89
DDR1	DDR1	89
DDR2	DDR2	61
DLK	MAP3K12	100
DMPK	DMPK	96
DMPK2	CDC42BPG	77

A.9. *KINOMEScan*-Ergebnisse der Firma DiscoveRx

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
DRAK1	STK17A	100
DRAK2	STK17B	100
DYRK1A	DYRK1A	97
DYRK1B	DYRK1B	24
DYRK2	DYRK2	92
EGFR	EGFR	100
EGFR(E746-A750del)	EGFR	100
EGFR(G719C)	EGFR	100
EGFR(G719S)	EGFR	100
EGFR(L747-E749del, A750P)	EGFR	100
EGFR(L747-S752del, P753S)	EGFR	100
EGFR(L747-T751del,Sins)	EGFR	100
EGFR(L858R)	EGFR	95
EGFR(L858R,T790M)	EGFR	100
EGFR(L861Q)	EGFR	100
EGFR(S752-I759del)	EGFR	100
EGFR(T790M)	EGFR	99
EIF2AK1	EIF2AK1	79
EPHA1	EPHA1	75
EPHA2	EPHA2	100
EPHA3	EPHA3	100
EPHA4	EPHA4	100
EPHA5	EPHA5	85
EPHA6	EPHA6	92
EPHA7	EPHA7	92
EPHA8	EPHA8	97
EPHB1	EPHB1	97
EPHB2	EPHB2	80

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
EPHB3	EPHB3	100
EPHB4	EPHB4	93
EPHB6	EPHB6	100
ERBB2	ERBB2	100
ERBB3	ERBB3	99
ERBB4	ERBB4	86
ERK1	MAPK3	81
ERK2	MAPK1	97
ERK3	MAPK6	72
ERK4	MAPK4	100
ERK5	MAPK7	71
ERK8	MAPK15	89
ERN1	ERN1	100
FAK	PTK2	100
FER	FER	100
FES	FES	98
FGFR1	FGFR1	92
FGFR2	FGFR2	94
FGFR3	FGFR3	76
FGFR3(G697C)	FGFR3	92
FGFR4	FGFR4	71
FGR	FGR	98
FLT1	FLT1	100
FLT3	FLT3	47
FLT3(D835H)	FLT3	39
FLT3(D835Y)	FLT3	35
FLT3(ITD)	FLT3	75
FLT3(K663Q)	FLT3	68

A.9. *KINOMEScan*-Ergebnisse der Firma DiscoverX

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
FLT3(N841I)	FLT3	50
FLT3(R834Q)	FLT3	100
FLT3-autoinhibited	FLT3	82
FLT4	FLT4	94
FRK	FRK	86
FYN	FYN	88
GAK	GAK	96
GCN2(Kin.Dom.2,S808G)	EIF2AK4	100
GRK1	GRK1	69
GRK4	GRK4	99
GRK7	GRK7	24
GSK3A	GSK3A	17
GSK3B	GSK3B	70
HASPIN	GSG2	97
HCK	HCK	100
HIPK1	HIPK1	80
HIPK2	HIPK2	34
HIPK3	HIPK3	62
HIPK4	HIPK4	76
HPK1	MAP4K1	97
HUNK	HUNK	86
ICK	ICK	87
IGF1R	IGF1R	76
IKK-alpha	CHUK	100
IKK-beta	IKBKB	81
IKK-epsilon	IKBKE	97
INSR	INSR	100
INSRR	INSRR	86

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
IRAK1	IRAK1	100
IRAK3	IRAK3	33
IRAK4	IRAK4	100
ITK	ITK	85
JAK1(JH1domain-catalytic)	JAK1	41
JAK1(JH2domain-pseudokinase)	JAK1	85
JAK2(JH1domain-catalytic)	JAK2	32
JAK3(JH1domain-catalytic)	JAK3	92
JNK1	MAPK8	73
JNK2	MAPK9	82
JNK3	MAPK10	73
KIT	KIT	99
KIT(A829P)	KIT	100
KIT(D816H)	KIT	100
KIT(D816V)	KIT	82
KIT(L576P)	KIT	96
KIT(V559D)	KIT	100
KIT(V559D,T670I)	KIT	91
KIT(V559D,V654A)	KIT	98
KIT-autoinhibited	KIT	72
LATS1	LATS1	83
LATS2	LATS2	100
LCK	LCK	100
LIMK1	LIMK1	100
LIMK2	LIMK2	86
LKB1	STK11	80
LOK	STK10	100
LRRK2	LRRK2	100

A.9. *KINOMEScan*-Ergebnisse der Firma DiscoveRx

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
LRRK2(G2019S)	LRRK2	100
LTK	LTK	100
LYN	LYN	97
LZK	MAP3K13	99
MAK	MAK	100
MAP3K1	MAP3K1	62
MAP3K15	MAP3K15	62
MAP3K2	MAP3K2	89
MAP3K3	MAP3K3	93
MAP3K4	MAP3K4	79
MAP4K2	MAP4K2	86
MAP4K3	MAP4K3	100
MAP4K4	MAP4K4	91
MAP4K5	MAP4K5	85
MAPKAPK2	MAPKAPK2	100
MAPKAPK5	MAPKAPK5	100
MARK1	MARK1	95
MARK2	MARK2	100
MARK3	MARK3	75
MARK4	MARK4	100
MAST1	MAST1	62
MEK1	MAP2K1	97
MEK2	MAP2K2	100
MEK3	MAP2K3	43
MEK4	MAP2K4	100
MEK5	MAP2K5	100
MEK6	MAP2K6	100
MELK	MELK	20

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
MERTK	MERTK	70
MET	MET	96
MET(M1250T)	MET	88
MET(Y1235D)	MET	100
MINK	MINK1	56
MKK7	MAP2K7	100
MKNK1	MKNK1	57
MKNK2	MKNK2	85
MLCK	MYLK3	98
MLK1	MAP3K9	83
MLK2	MAP3K10	100
MLK3	MAP3K11	93
MRCKA	CDC42BPA	67
MRCKB	CDC42BPB	100
MST1	STK4	94
MST1R	MST1R	100
MST2	STK3	13
MST3	STK24	100
MST4	MST4	94
MTOR	MTOR	86
MUSK	MUSK	73
MYLK	MYLK	100
MYLK2	MYLK2	100
MYLK4	MYLK4	84
MYO3A	MYO3A	100
MYO3B	MYO3B	95
NDR1	STK38	70
NDR2	STK38L	92

A.9. *KINOMEScan*-Ergebnisse der Firma DiscoverX

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
NEK1	NEK1	89
NEK10	NEK10	100
NEK11	NEK11	99
NEK2	NEK2	93
NEK3	NEK3	90
NEK4	NEK4	69
NEK5	NEK5	79
NEK6	NEK6	83
NEK7	NEK7	100
NEK9	NEK9	100
NIK	MAP3K14	93
NIM1	MGC42105	52
NLK	NLK	80
OSR1	OXS1	63
p38-alpha	MAPK14	87
p38-beta	MAPK11	100
p38-delta	MAPK13	100
p38-gamma	MAPK12	100
PAK1	PAK1	89
PAK2	PAK2	65
PAK3	PAK3	100
PAK4	PAK4	95
PAK6	PAK6	100
PAK7	PAK7	100
PCTK1	CDK16	91
PCTK2	CDK17	77
PCTK3	CDK18	92
PDGFRA	PDGFRA	72

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
PDGFRB	PDGFRB	82
PDPK1	PDPK1	74
PFCDPK1(P.falciparum)	CDPK1	72
PFPK5(P.falciparum)	MAL13P1.279	94
PFTAIRE2	CDK15	91
PFTK1	CDK14	90
PHKG1	PHKG1	100
PHKG2	PHKG2	88
PIK3C2B	PIK3C2B	100
PIK3C2G	PIK3C2G	100
PIK3CA	PIK3CA	100
PIK3CA(C420R)	PIK3CA	89
PIK3CA(E542K)	PIK3CA	100
PIK3CA(E545A)	PIK3CA	84
PIK3CA(E545K)	PIK3CA	99
PIK3CA(H1047L)	PIK3CA	94
PIK3CA(H1047Y)	PIK3CA	93
PIK3CA(I800L)	PIK3CA	76
PIK3CA(M1043I)	PIK3CA	100
PIK3CA(Q546K)	PIK3CA	100
PIK3CB	PIK3CB	100
PIK3CD	PIK3CD	100
PIK3CG	PIK3CG	100
PIK4CB	PI4KB	100
PIM1	PIM1	56
PIM2	PIM2	77
PIM3	PIM3	78
PIP5K1A	PIP5K1A	100

A.9. KINOMEScan-Ergebnisse der Firma DiscoverX

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
PIP5K1C	PIP5K1C	100
PIP5K2B	PIP4K2B	82
PIP5K2C	PIP4K2C	100
PKAC-alpha	PRKACA	74
PKAC-beta	PRKBCB	100
PKMYT1	PKMYT1	100
PKN1	PKN1	100
PKN2	PKN2	100
PKNB(M.tuberculosis)	pknB	100
PLK1	PLK1	57
PLK2	PLK2	100
PLK3	PLK3	100
PLK4	PLK4	65
PRKCD	PRKCD	67
PRKCE	PRKCE	95
PRKCH	PRKCH	72
PRKCI	PRKCI	74
PRKCQ	PRKCQ	98
PRKD1	PRKD1	95
PRKD2	PRKD2	91
PRKD3	PRKD3	76
PRKG1	PRKG1	100
PRKG2	PRKG2	48
PRKR	EIF2AK2	91
PRKX	PRKX	100
PRP4	PRPF4B	74
PYK2	PTK2B	100
QSK	KIAA0999	79

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
RAF1	RAF1	98
RET	RET	91
RET(M918T)	RET	82
RET(V804L)	RET	83
RET(V804M)	RET	100
RIOK1	RIOK1	100
RIOK2	RIOK2	56
RIOK3	RIOK3	73
RIPK1	RIPK1	73
RIPK2	RIPK2	76
RIPK4	RIPK4	87
RIPK5	DSTYK	100
ROCK1	ROCK1	100
ROCK2	ROCK2	100
ROS1	ROS1	100
RPS6KA4(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA4	100
RPS6KA4(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA4	96
RPS6KA5(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA5	100
RPS6KA5(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA5	100
RSK1(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA1	94
RSK1(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA1	100
RSK2(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA3	100
RSK2(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA3	67
RSK3(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA2	100
RSK3(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA2	100
RSK4(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA6	82
RSK4(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA6	100
S6K1	RPS6KB1	79

A.9. *KINOMEScan*-Ergebnisse der Firma DiscoverX

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
SBK1	SBK1	95
SGK	SGK1	100
SgK110	SgK110	91
SGK2	SGK2	96
SGK3	SGK3	79
SIK	SIK1	85
SIK2	SIK2	100
SLK	SLK	100
SNARK	NUAK2	100
SNRK	SNRK	91
SRC	SRC	90
SRMS	SRMS	74
SRPK1	SRPK1	75
SRPK2	SRPK2	70
SRPK3	SRPK3	83
STK16	STK16	100
STK33	STK33	78
STK35	STK35	100
STK36	STK36	96
STK39	STK39	100
SYK	SYK	95
TAK1	MAP3K7	58
TAOK1	TAOK1	75
TAOK2	TAOK2	79
TAOK3	TAOK3	69
TBK1	TBK1	100
TEC	TEC	83
TESK1	TESK1	79

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
TGFBR1	TGFBR1	90
TGFBR2	TGFBR2	94
TIE1	TIE1	100
TIE2	TEK	100
TLK1	TLK1	100
TLK2	TLK2	100
TNIK	TNIK	100
TNK1	TNK1	100
TNK2	TNK2	76
TNNI3K	TNNI3K	69
TRKA	NTRK1	90
TRKB	NRTK2	97
TRKC	NTRK3	100
TRPM6	TRPM6	99
TSSK1B	TSSK1B	100
TTK	TTK	100
TXK	TXK	85
TYK2(JH1domain-catalytic)	TYK2	48
TYK2(JH2domain-pseudokinase)	TYK2	100
TYRO3	TYRO3	83
ULK1	ULK1	91
ULK2	ULK2	81
ULK3	ULK3	79
VEGFR2	KDR	76
VRK2	VRK2	99
WEE1	WEE1	78
WEE2	WEE2	94
WNK1	WNK1	100

A.9. KINOMEScan-Ergebnisse der Firma DiscoveRx

Tab. 1.20: Screening-Ergebnisse von Verbindung **32** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
WNK3	WNK3	85
YANK1	STK32A	100
YANK2	STK32B	100
YANK3	STK32C	96
YES	YES1	85
YSK1	STK25	77
YSK4	YSK4	79
ZAK	ZAK	78
ZAP70	ZAP70	96

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111**.

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
AAK1	AAK1	11
ABL1(E255K)-phosphorylated	ABL1	100
ABL1(F317I)-nonphosphorylated	ABL1	100
ABL1(F317I)-phosphorylated	ABL1	85
ABL1(F317L)-nonphosphorylated	ABL1	100
ABL1(F317L)-phosphorylated	ABL1	89
ABL1(H396P)-nonphosphorylated	ABL1	75
ABL1(H396P)-phosphorylated	ABL1	100
ABL1(M351T)-phosphorylated	ABL1	81
ABL1(Q252H)-nonphosphorylated	ABL1	96
ABL1(Q252H)-phosphorylated	ABL1	100
ABL1(T315I)-nonphosphorylated	ABL1	100
ABL1(T315I)-phosphorylated	ABL1	94
ABL1(Y253F)-phosphorylated	ABL1	100
ABL1-nonphosphorylated	ABL1	92
ABL1-phosphorylated	ABL1	100
ABL2	ABL2	96
ACVR1	ACVR1	100
ACVR1B	ACVR1B	100
ACVR2A	ACVR2A	98
ACVR2B	ACVR2B	81
ACVRL1	ACVRL1	100
ADCK3	CABC1	93
ADCK4	ADCK4	100
AKT1	AKT1	89
AKT2	AKT2	86
AKT3	AKT3	81
ALK	ALK	60

A.9. KINOMEScan-Ergebnisse der Firma DiscoverX

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
AMPK-alpha1	PRKAA1	92
AMPK-alpha2	PRKAA2	97
ANKK1	ANKK1	86
ARK5	NUAK1	93
ASK1	MAP3K5	62
ASK2	MAP3K6	91
AURKA	AURKA	99
AURKB	AURKB	71
AURKC	AURKC	33
AXL	AXL	51
BIKE	BMP2K	17
BLK	BLK	81
BMPR1A	BMPR1A	100
BMPR1B	BMPR1B	50
BMPR2	BMPR2	39
BMX	BMX	92
BRAF	BRAF	75
BRAF(V600E)	BRAF	86
BRK	PTK6	80
BRSK1	BRSK1	100
BRSK2	BRSK2	100
BTK	BTK	95
BUB1	BUB1	100
CAMK1	CAMK1	99
CAMK1D	CAMK1D	93
CAMK1G	CAMK1G	49
CAMK2A	CAMK2A	16
CAMK2B	CAMK2B	25

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
CAMK2D	CAMK2D	37
CAMK2G	CAMK2G	46
CAMK4	CAMK4	100
CAMKK1	CAMKK1	49
CAMKK2	CAMKK2	54
CASK	CASK	43
CDC2L1	CDK11B	100
CDC2L2	CDC2L2	100
CDC2L5	CDK13	86
CDK11	CDK19	100
CDK2	CDK2	100
CDK3	CDK3	83
CDK4-cyclinD1	CDK4	45
CDK4-cyclinD3	CDK4	91
CDK5	CDK5	77
CDK7	CDK7	91
CDK8	CDK8	100
CDK9	CDK9	92
CDKL1	CDKL1	92
CDKL2	CDKL2	100
CDKL3	CDKL3	82
CDKL5	CDKL5	78
CHEK1	CHEK1	88
CHEK2	CHEK2	83
CIT	CIT	56
CLK1	CLK1	41
CLK2	CLK2	21
CLK3	CLK3	42

A.9. KINOMEScan-Ergebnisse der Firma DiscoverX

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
CLK4	CLK4	31
CSF1R	CSF1R	87
CSF1R-autoinhibited	CSF1R	70
CSK	CSK	100
CSNK1A1	CSNK1A1	79
CSNK1A1L	CSNK1A1L	99
CSNK1D	CSNK1D	63
CSNK1E	CSNK1E	68
CSNK1G1	CSNK1G1	81
CSNK1G2	CSNK1G2	100
CSNK1G3	CSNK1G3	100
CSNK2A1	CSNK2A1	100
CSNK2A2	CSNK2A2	51
CTK	MATK	100
DAPK1	DAPK1	80
DAPK2	DAPK2	45
DAPK3	DAPK3	62
DCAMKL1	DCLK1	91
DCAMKL2	DCLK2	70
DCAMKL3	DCLK3	99
DDR1	DDR1	96
DDR2	DDR2	100
DLK	MAP3K12	97
DMPK	DMPK	68
DMPK2	CDC42BPG	86
DRAK1	STK17A	64
DRAK2	STK17B	87
DYRK1A	DYRK1A	0.8

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
DYRK1B	DYRK1B	25
DYRK2	DYRK2	18
EGFR	EGFR	89
EGFR(E746-A750del)	EGFR	100
EGFR(G719C)	EGFR	100
EGFR(G719S)	EGFR	100
EGFR(L747-E749del, A750P)	EGFR	77
EGFR(L747-S752del, P753S)	EGFR	100
EGFR(L747-T751del,Sins)	EGFR	85
EGFR(L858R)	EGFR	98
EGFR(L858R,T790M)	EGFR	89
EGFR(L861Q)	EGFR	87
EGFR(S752-I759del)	EGFR	100
EGFR(T790M)	EGFR	45
EIF2AK1	EIF2AK1	100
EPHA1	EPHA1	88
EPHA2	EPHA2	99
EPHA3	EPHA3	78
EPHA4	EPHA4	100
EPHA5	EPHA5	84
EPHA6	EPHA6	77
EPHA7	EPHA7	63
EPHA8	EPHA8	50
EPHB1	EPHB1	84
EPHB2	EPHB2	84
EPHB3	EPHB3	86
EPHB4	EPHB4	94
EPHB6	EPHB6	35

A.9. *KINOMEScan*-Ergebnisse der Firma DiscoveRx

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
ERBB2	ERBB2	100
ERBB3	ERBB3	100
ERBB4	ERBB4	100
ERK1	MAPK3	90
ERK2	MAPK1	92
ERK3	MAPK6	85
ERK4	MAPK4	81
ERK5	MAPK7	100
ERK8	MAPK15	42
ERN1	ERN1	96
FAK	PTK2	100
FER	FER	100
FES	FES	72
FGFR1	FGFR1	93
FGFR2	FGFR2	100
FGFR3	FGFR3	74
FGFR3(G697C)	FGFR3	67
FGFR4	FGFR4	100
FGR	FGR	86
FLT1	FLT1	73
FLT3	FLT3	15
FLT3(D835H)	FLT3	35
FLT3(D835Y)	FLT3	68
FLT3(ITD)	FLT3	46
FLT3(K663Q)	FLT3	21
FLT3(N841I)	FLT3	56
FLT3(R834Q)	FLT3	74
FLT3-autoinhibited	FLT3	61

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
FLT4	FLT4	89
FRK	FRK	100
FYN	FYN	100
GAK	GAK	69
GCN2(Kin.Dom.2,S808G)	EIF2AK4	77
GRK1	GRK1	75
GRK4	GRK4	32
GRK7	GRK7	72
GSK3A	GSK3A	47
GSK3B	GSK3B	59
HASPIN	GSG2	4.0
HCK	HCK	100
HIPK1	HIPK1	7.7
HIPK2	HIPK2	10
HIPK3	HIPK3	8.0
HIPK4	HIPK4	23
HPK1	MAP4K1	93
HUNK	HUNK	77
ICK	ICK	100
IGF1R	IGF1R	99
IKK-alpha	CHUK	100
IKK-beta	IKBKB	100
IKK-epsilon	IKBKE	100
INSR	INSR	61
INSRR	INSRR	81
IRAK1	IRAK1	73
IRAK3	IRAK3	61
IRAK4	IRAK4	99

A.9. KINOMEScan-Ergebnisse der Firma DiscoverX

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
ITK	ITK	89
JAK1(JH1domain-catalytic)	JAK1	100
JAK1(JH2domain-pseudokinase)	JAK1	17
JAK2(JH1domain-catalytic)	JAK2	88
JAK3(JH1domain-catalytic)	JAK3	29
JNK1	MAPK8	46
JNK2	MAPK9	75
JNK3	MAPK10	50
KIT	KIT	62
KIT(A829P)	KIT	100
KIT(D816H)	KIT	85
KIT(D816V)	KIT	60
KIT(L576P)	KIT	62
KIT(V559D)	KIT	49
KIT(V559D,T670I)	KIT	96
KIT(V559D,V654A)	KIT	89
KIT-autoinhibited	KIT	84
LATS1	LATS1	81
LATS2	LATS2	33
LCK	LCK	98
LIMK1	LIMK1	95
LIMK2	LIMK2	93
LKB1	STK11	85
LOK	STK10	84
LRRK2	LRRK2	59
LRRK2(G2019S)	LRRK2	96
LTK	LTK	87
LYN	LYN	87

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
LZK	MAP3K13	100
MAK	MAK	100
MAP3K1	MAP3K1	74
MAP3K15	MAP3K15	100
MAP3K2	MAP3K2	62
MAP3K3	MAP3K3	76
MAP3K4	MAP3K4	100
MAP4K2	MAP4K2	64
MAP4K3	MAP4K3	78
MAP4K4	MAP4K4	93
MAP4K5	MAP4K5	99
MAPKAPK2	MAPKAPK2	100
MAPKAPK5	MAPKAPK5	100
MARK1	MARK1	91
MARK2	MARK2	83
MARK3	MARK3	67
MARK4	MARK4	90
MAST1	MAST1	100
MEK1	MAP2K1	77
MEK2	MAP2K2	93
MEK3	MAP2K3	100
MEK4	MAP2K4	57
MEK5	MAP2K5	100
MEK6	MAP2K6	100
MELK	MELK	56
MERTK	MERTK	71
MET	MET	4.8
MET(M1250T)	MET	23

A.9. KINOMEScan-Ergebnisse der Firma DiscoveRx

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
MET(Y1235D)	MET	40
MINK	MINK1	86
MKK7	MAP2K7	100
MKNK1	MKNK1	100
MKNK2	MKNK2	24
MLCK	MYLK3	65
MLK1	MAP3K9	70
MLK2	MAP3K10	100
MLK3	MAP3K11	100
MRCKA	CDC42BPA	98
MRCKB	CDC42BPB	41
MST1	STK4	91
MST1R	MST1R	73
MST2	STK3	61
MST3	STK24	65
MST4	MST4	92
MTOR	MTOR	100
MUSK	MUSK	90
MYLK	MYLK	54
MYLK2	MYLK2	100
MYLK4	MYLK4	26
MYO3A	MYO3A	86
MYO3B	MYO3B	100
NDR1	STK38	100
NDR2	STK38L	60
NEK1	NEK1	100
NEK11	NEK11	100
NEK2	NEK2	100

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
NEK3	NEK3	100
NEK4	NEK4	100
NEK5	NEK5	73
NEK6	NEK6	53
NEK7	NEK7	82
NEK9	NEK9	97
NIM1	MGC42105	100
NLK	NLK	82
OSR1	OXSRI	62
p38-alpha	MAPK14	97
p38-beta	MAPK11	100
p38-delta	MAPK13	64
p38-gamma	MAPK12	100
PAK1	PAK1	100
PAK2	PAK2	82
PAK3	PAK3	87
PAK4	PAK4	97
PAK6	PAK6	95
PAK7	PAK7	100
PCTK1	CDK16	86
PCTK2	CDK17	100
PCTK3	CDK18	67
PDGFRA	PDGFRA	93
PDGFRB	PDGFRB	71
PDPK1	PDPK1	100
PFCDPK1(P.falciparum)	CDPK1	100
PFPK5(P.falciparum)	MAL13P1.279	100
PFTAIRE2	CDK15	98

A.9. KINOMEScan-Ergebnisse der Firma DiscoverX

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
PFTK1	CDK14	73
PHKG1	PHKG1	100
PHKG2	PHKG2	42
PIK3C2B	PIK3C2B	95
PIK3C2G	PIK3C2G	84
PIK3CA	PIK3CA	96
PIK3CA(C420R)	PIK3CA	80
PIK3CA(E542K)	PIK3CA	100
PIK3CA(E545A)	PIK3CA	100
PIK3CA(E545K)	PIK3CA	100
PIK3CA(H1047L)	PIK3CA	100
PIK3CA(H1047Y)	PIK3CA	76
PIK3CA(I800L)	PIK3CA	90
PIK3CA(M1043I)	PIK3CA	100
PIK3CA(Q546K)	PIK3CA	86
PIK3CB	PIK3CB	100
PIK3CD	PIK3CD	86
PIK3CG	PIK3CG	62
PIK4CB	PI4KB	100
PIM1	PIM1	39
PIM2	PIM2	0.55
PIM3	PIM3	19
PIP5K1A	PIP5K1A	58
PIP5K1C	PIP5K1C	52
PIP5K2B	PIP4K2B	28
PIP5K2C	PIP4K2C	100
PKAC-alpha	PRKACA	96
PKAC-beta	PRKBCB	74

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
PKMYT1	PKMYT1	75
PKN1	PKN1	100
PKN2	PKN2	56
PKNB(M.tuberculosis)	pknB	67
PLK1	PLK1	96
PLK2	PLK2	85
PLK3	PLK3	100
PLK4	PLK4	53
PRKCD	PRKCD	100
PRKCE	PRKCE	76
PRKCH	PRKCH	63
PRKCI	PRKCI	100
PRKCQ	PRKCQ	100
PRKD1	PRKD1	100
PRKD2	PRKD2	100
PRKD3	PRKD3	84
PRKG1	PRKG1	77
PRKG2	PRKG2	58
PRKR	EIF2AK2	82
PRKX	PRKX	100
PRP4	PRPF4B	61
PYK2	PTK2B	93
QSK	KIAA0999	100
RAF1	RAF1	100
RET	RET	92
RET(M918T)	RET	61
RET(V804L)	RET	72
RET(V804M)	RET	100

A.9. *KINOMEScan*-Ergebnisse der Firma DiscoveRx

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
RIOK1	RIOK1	36
RIOK2	RIOK2	70
RIOK3	RIOK3	8.2
RIPK1	RIPK1	82
RIPK2	RIPK2	100
RIPK4	RIPK4	100
RIPK5	DSTYK	79
ROCK1	ROCK1	55
ROCK2	ROCK2	9.4
ROS1	ROS1	97
RPS6KA4(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA4	83
RPS6KA4(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA4	65
RPS6KA5(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA5	100
RPS6KA5(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA5	43
RSK1(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA1	100
RSK1(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA1	51
RSK2(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA3	59
RSK2(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA3	100
RSK3(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA2	100
RSK3(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA2	75
RSK4(Kin.Dom.1-N-terminal)	RPS6KA6	41
RSK4(Kin.Dom.2-C-terminal)	RPS6KA6	66
S6K1	RPS6KB1	90
SBK1	SBK1	81
SGK	SGK1	87
SgK110	SgK110	100
SGK3	SGK3	54
SIK	SIK1	80

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
SIK2	SIK2	100
SLK	SLK	96
SNARK	NUAK2	37
SNRK	SNRK	100
SRC	SRC	84
SRMS	SRMS	52
SRPK1	SRPK1	26
SRPK2	SRPK2	100
SRPK3	SRPK3	31
STK16	STK16	84
STK33	STK33	68
STK35	STK35	87
STK36	STK36	72
STK39	STK39	80
SYK	SYK	100
TAK1	MAP3K7	33
TAOK1	TAOK1	40
TAOK2	TAOK2	100
TAOK3	TAOK3	74
TBK1	TBK1	100
TEC	TEC	83
TESK1	TESK1	76
TGFBR1	TGFBR1	91
TGFBR2	TGFBR2	98
TIE1	TIE1	88
TIE2	TEK	100
TLK1	TLK1	78
TLK2	TLK2	73

A.9. KINOMEScan-Ergebnisse der Firma DiscoverX

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
TNIK	TNIK	84
TNK1	TNK1	84
TNK2	TNK2	96
TNNI3K	TNNI3K	84
TRKA	NTRK1	33
TRKB	NRTK2	20
TRKC	NTRK3	41
TRPM6	TRPM6	100
TSSK1B	TSSK1B	100
TTK	TTK	50
TXK	TXK	100
TYK2(JH1domain-catalytic)	TYK2	55
TYK2(JH2domain-pseudokinase)	TYK2	100
TYRO3	TYRO3	90
ULK1	ULK1	39
ULK2	ULK2	100
ULK3	ULK3	53
VEGFR2	KDR	100
VRK2	VRK2	89
WEE1	WEE1	7.2
WEE2	WEE2	20
WNK1	WNK1	100
WNK3	WNK3	91
YANK1	STK32A	93
YANK2	STK32B	89
YANK3	STK32C	74
YES	YES1	100
YSK1	STK25	99

Tab. 1.21: Screening-Ergebnisse von Verbindung **111** (Fortsetzung).

Ambit Gene Symbol	Entrez Gene Symbol	Prozent (Kontrolle)
YSK4	YSK4	23
ZAK	ZAK	85
ZAP70	ZAP70	81

Erklärung

gemäß §10, Abs. 1 der Promotionsordnung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen
Fachbereiche und des Medizinischen Fachbereichs für seine mathematisch-
naturwissenschaftlichen Fächer der Philipps-Universität Marburg vom 15.07.2009

Ich erkläre, dass eine Promotion noch an keiner anderen Hochschule als der Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Chemie, versucht wurde und versichere, dass ich meine vorgelegte Dissertation

Entwicklung metallorganischer Verbindungen für die Verwendung in der Krebstherapie

selbst und ohne fremde Hilfe verfasst, nicht andere als die in ihr angegebenen Quellen oder Hilfsmittel benutzt, alle vollständig oder sinngemäß übernommenen Zitate als solche gekennzeichnet sowie die Dissertation in der vorliegenden oder ähnlichen Form noch bei keiner anderen in- oder ausländischen Hochschule anlässlich eines Promotionsgesuches oder zu anderen Prüfungszwecken eingereicht habe.

Stadtallendorf, den 07.01.2014

(Kathrin Marga Wähler)

